



T. C.

ORDU ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**GÜLYALI TÜRK FINDIĞI (*Corylus colurna* L.)'NİN YAPRAK
EKSTRAKTI KULLANILARAK SENTEZLENEN
GÜMÜŞ NANOPARTİKÜLLERİN OPTİMİZASYONU VE
ANTİFUNGAL AKTİVİTESİ**

CEYLAN GEVREK

YÜKSEK LİSANS TEZİ

BİTKİ KORUMA ANABİLİM DALI

ORDU 2023

TEZ BİLDİRİMİ

Tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan ve kullanılan intihal tespit programının sonuçlarına göre; bu tezin yazılmasında bilimsel ahlak kurallarına uyulduğunu, başkalarının eserlerinden yararlanılması durumunda bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunulduğunu, tezin içerdği yenilik ve sonuçların başka bir yerden alınmadığını, kullanılan verilerde herhangi bir tahrifat yapılmadığını, tezin herhangi bir kısmının bu üniversite veya başka bir üniversitedeki başka bir tez çalışması olarak sunulmadığını beyan ederim.

CEYLAN GEVREK

Not: Bu tezde kullanılan özgün ve başka kaynaktan yapılan bildirişlerin, çizelge, şekil ve fotoğrafların kaynak gösterilmeden kullanımı, 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunundaki hükümlere tabidir.

ÖZET

GÜLYALI TÜRK FINDIĞI (*Corylus colurna* L.)'NİN YAPRAK EKSTRAKTI KULLANILARAK SENTEZLENEN GÜMÜŞ NANOPARTİKÜLLERİN OPTİMİZASYONU VE ANTİFUNGAL AKTİVİTESİ

CEYLAN GEVREK

ORDU ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BİTKİ KORUMA ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ, 45 SAYFA

(TEZ DANIŞMANI: Prof. Dr. Muharrem TÜRKKAN)

Bu çalışmada, gümüş nanopartiküller (AgNP'ler) sentez etmek için indirgeyici ve kaplayıcı ajan olarak Türk fındığı yaprak ekstraktı kullanılmıştır. Tepki Yüzey Metodolojisinin Yüz Merkezli Merkezi Kompozit Tasarımı, üretilen maksimum AgNP miktarını elde etmek için üç farklı sentez değişkeninin birleşik etkisini araştırmak için kullanılmıştır. AgNO₃ konsantrasyonu, bitki yaprak ekstraktı/AgNO₃ oranı ve reaksiyon süresi sırasıyla 5 mM, 0.1 ve 90 saniye olduğunda, araştırılan aralıkta optimum AgNP üretimi elde edilmiştir. UV-Vis, FT-IR ve TEM analizi, sentezlenen AgNP'leri karakterize etmek için kullanılmıştır. Ayrıca, *in vitro* denemelerde, altı *Phytophthora* türü (*P. cactorum*, *P. capsici*, *P. cinnamomi*, *P. citrophthora*, *P. nicotianae* ve *P. palmivora*) için sentezlenen AgNP'lerin EC₅₀ değerlerinin 118.68 ile 292.56 µg ml⁻¹ arasında değiştiğini ortaya koymuştur. Diğer taraftan, tüm funguslar için MIC değeri 340 µg ml⁻¹'in üzerinde bulunmuştur. Bu çalışmanın sonuçları, fındık yaprak ekstraktı ile sentezlenen AgNP'lerin, *Phytophthora* hastalıklarının kontrolünde kullanılmak üzere daha fazla araştırılması gerektiğini göstermektedir.

Anahtar Kelimeler: *Corylus colurna* (L.), Gümüş nanopartikül, Yüz Merkezli Merkezi Kompozit Tasarım, *Phytophthora*, Toksisite.

ABSTRACT

OPTIMIZATION AND ANTIFUNGAL ACTIVITY OF SILVER NANOPARTICLES SYNTHESIZED USING THE LEAF EXTRACT OF GÜLYALI TURKISH HAZELNUT (*Corylus colurna* L.)

CEYLAN GEVREK

ORDU UNIVERSITY INSTITUTE OF NATURAL AND APPLIED SCIENCES

PLANT PROTECTION

MASTER THESIS, 45 PAGES

(SUPERVISOR: SUPERVISOR: Prof. Dr. MUHARREM TÜRKKAN)

The present study used hazelnut [*Corylus colurna* (L.)] leaf extract as a reducing and coating agent to create silver nanoparticles (AgNPs). The Face-Centered Central Composite Design of Response Surface Methodology was used to investigate the combined effect of three different synthesis variables in order to obtain the maximum amount of AgNPs produced. Optimal AgNP production was achieved within the investigated range when the AgNO₃ concentration, plant leaf extract/AgNO₃ ratio, and time were 5 mM, 0.1, and 90 seconds, respectively. The UV–Vis, FT–IR, and TEM analysis were utilized to characterize the synthesized AgNPs. In addition, *in vitro* experiments revealed that the EC₅₀ values of synthesized AgNPs for six *Phytophthora* species (*P. cactorum*, *P. capsici*, *P. cinnamomi*, *P. citrophthora*, *P. nicotianae* and *P. palmivora*) varied between 118.68 and 292.56 µg ml⁻¹. On the other hand, MIC values for all fungi were above 340 µg ml⁻¹. The results study indicate that AgNPs synthesized with hazelnut leaf extract should be further investigated for use in the control of *Phytophthora* diseases.

Keywords: *Corylus colurna* (L.), Silver nanoparticles, Face-centered Central Composite Design, *Phytophthora* spp., Toxicity.

TEŞEKKÜR

Tez konumun belirlenmesi, çalışmamın yürütülmesi ve yazımı aşamalarında büyük desteğini gördüğüm sayın danışman hocam Prof. Dr. Muharrem TÜRKKAN'a en içten sevgilerimi sunarım. Laboratuvar çalışmalarının tüm aşamalarında yanımda olan hocam Araş. Gör. Uğur YİĞİT'e çok teşekkür ederim. Tezin yazımına düzeltmeleri ile katkı sağlayan sayın hocam Prof. Dr. İsmail ERPER ve Dr. Öğretim Üyesi Arzu SEZER'e teşekkür ederim. Tez çalışmasının yürütülmesine maddi olarak destek sağlayan Gülyalı Belediye Başkanı Sayın Ulaş TEPE'ye teşekkür ederim.

Ayrıca bu süreçte her zaman desteklerini hissettiğim, nişanlım Zir. Müh. Enes ÇUKUR, Zir. Yük. Müh. Şaziye KARAYAR, Av. Hüsne ŞAHİN, Dyt. Şüheda ŞAHİN, Zir. Müh. Yaren GÜREL, Nagehan ATAŞ ve Kübra ÇEBİ'ye çok teşekkür ederim.

Aynı zamanda maddi manevi her zaman yanımda olan, desteklerini hiç bir zaman esirgemeyen, annem Gülhanım GEVREK, babam Davut GEVREK, kardeşlerim Nisanur GEVREK ve İsmail GEVREK'e teşekkürü bir borç bilirim.

İÇİNDEKİLER

TEZ BİLDİRİMİ	I
ÖZET	II
ABSTRACT	III
TEŞEKKÜR	IV
İÇİNDEKİLER	V
ŞEKİL LİSTESİ	VI
ÇİZELGE LİSTESİ	VII
SİMGELER ve KISALTMALAR LİSTESİ	VIII
1. GİRİŞ	1
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR	6
3. MATERYAL ve YÖNTEM	13
3.1 Çalışmada Kullanılan Materyaller.....	13
3.1.1 Bitki Materyali	13
3.1.2 Kimyasallar ve Besin Ortamları.....	13
3.1.3 Funguslar.....	13
3.2 Çalışmada İzlenecek Yöntem.....	13
3.2.1 Bitki Materyalinin Kurutulması	13
3.2.2 Fındık Yaprak Ekstraktının Elde Edilmesi.....	14
3.2.3 Mikrodalga Fırın ile Fındık Yaprak Ekstraktından Gümüş Nanopartiküllerin Sentezi.....	15
3.2.4 Yanıt Yüzey Yöntemi ile Sentez Parametrelerinin Optimizasyonu	16
3.2.5 Sentez Edilen Gümüş Nanopartiküllerin Karakterizasyonu.....	18
3.2.5.1 UV-Vis Spektroskopisi	18
3.2.5.2 Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi (FT-IR)	18
3.2.5.3 İletimli Elektron Mikroskobu (TEM)	18
3.2.5.4 Sentez Edilen Gümüş Nanopartiküllerin Antifungal Etkinliklerinin Belirlenmesi	19
4. BULGULAR ve TARTIŞMA	20
4.1 Fındık Yaprak Ekstraktı ile Gümüş Nanopartiküllerin Mikrodalga Fırın Aracılığı ile Yeşil Sentezi	20
4.2 UV-Vis Spektrum Analizi.....	22
4.3 Optimum Noktanın Belirlenmesi	23
4.4 Modelin Doğrulanması.....	27
4.5 Optimum Noktanın Belirlenmesi ve Geçerliliği	27
4.6 İletimli Elektron Mikroskop (TEM) Analizi.....	28
4.7 Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi (FT-IR)	29
4.8 Antifungal Aktivite	30
5. SONUÇ ve ÖNERİLER	32
6. KAYNAKLAR	34
ÖZGEÇMİŞ	43

ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa

Şekil 3.1 Fındık Yapraklarının Araziden Toplanması, Kurutulması ve Saklanması..	13
Şekil 3.2 Fındık Yaprak Ekstraktının Hazırlanma Aşamaları	14
Şekil 3.3 Fındık Yaprak Ekstraktı ile Gümüş Nanopartikül Sentezi ve UV Spektrası	15
Şekil 3.4 UV-Vis Spektroskopisi	18
Şekil 4.1 Mikrodalga Fırın ile Sentez Edilen AgNP'lerin UV Spektraları ve Solüsyondaki Renk Değişimi	20
Şekil 4.2 Sentez Edilen AgNP'lerin UV-Vis Spektraları (a) ve Renk Değişimleri (b)	22
Şekil 4.3 Sentez Edilen AgNP'lerin 350-420 nm Aralığındaki Alanları (Trapezoidal Yöntem Kullanılarak Excel ile Hesaplanmıştır)	23
Şekil 4.4 Bağımsız Değişkenlerin Gümüş Nanopartikül Üretimi Üzerine Etkilerinin İncelendiği Üç boyulu Yanıt Yüzey Kontür Grafikleri	26
Şekil 4.5 Fındık Yaprak Ekstraktı Kullanılarak Mikrodalga ile Gümüş Nanopartikül Üretiminin Optimizasyon Çalışması ile Elde Edilen Modelin Deneysel Veriler ile Uyumluluğu.....	27
Şekil 4.6 Fındık Yaprak Ekstraktı ile Sentez Edilen Gümüş Nanopartiküllerin TEM Görüntüsü	28
Şekil 4.7 Fındık Yaprak Ekstraktı (a) ve AgNP (b) FT-IR Spektrumu.....	30

ÇİZELGE LİSTESİ

Sayfa

Çizelge 3.1 Gümüş Nanopartiküllerin Yeşil Sentezi İçin Belirlenen Bağımsız Değişkenlerin Alt ve Üst Sınır Değerleri.....	17
Çizelge 3.2 Yüz Merkezli Merkezi Kompozit Tasarım (FCCCD)	17
Çizelge 4.1 Yüz Merkezli Merkezi Kompozit Tasarımı (FCCCD) ve Trapezoidal Alan Verileri	23
Çizelge 4.2 FCCCD Model İstatistikleri.....	24
Çizelge 4.3 Quadratic Modele ait ANOVA Analizleri	25
Çizelge 4.4 Fındık Yaprak Ekstraktı ile Sentezlenen Gümüş Nanopartiküllerin Bazı <i>Phytophthora</i> Türlerine Karşı Toksisiteleri	31

SİMGELER ve KISALTMALAR LİSTESİ

μl	:	Mikrolitre
$^{\circ}\text{C}$	:	Santigrat
Ag	:	Gümüş
AgNO_3	:	Gümüş nitrat
AgNP	:	Gümüş nanopartikül
Dk	:	Dakika
DLS	:	Dinamik ışık saçılım spektrometresi
EDX	:	Enerji Dağılımı X Işını Analizi
FT-IR	:	Fourier dönüşümü kızılötesi spektroskopisi
HCl	:	Hidroklorik asit
L	:	Litre
μg	:	Mikrogram
mg	:	Miligram
ml	:	Mililitre
mM	:	Milimolar
NaOH	:	Sodyum hidroksit
pH	:	Power of Hydrogen (Hidrojenin gücü)
rpm	:	Revolution Per Minute (Dakikadaki devir sayısı)
SEM	:	Taramalı elektron mikroskop
sn	:	Saniye
TEM	:	Geçirimli elektron mikroskop
UV – Vis	:	Ultraviyole ve görünür ışık
W	:	Güç
XRD	:	X –Işınları Kırınım Difraktometresi

1. GİRİŞ

Fındık (*Corylus* sp.) Betulacea familyasına ait bir tür olup Türkiye, Balkan ve Kafkasya bölgesinde doğal olarak yayılış gösterir. *Corylus* sp. ağaç ve çalımsı formda bir bitkidir ve dünyadaki 13 farklı fındık türünden biridir (Molnar, 2011; Botta ve ark., 2019). Türk fındığı ya da Bolu fındığı olarak bilinen *Corylus colurna* yabani bir tür olup, 800-1700 m rakım arasında yayılış göstermektedir. Tek dal olması ile diğer fındık türlerinden kolayca ayırt edilebilmektedir. 35 metre yüksekliğe ve 1.5 metre gövde çapına ulaşan en büyük fındık türüdür. Hem dikey hemde yatay olarak gelişen kuvvetli kazık kök yapısına sahiptir. Kuraklığa karşı direnci yüksek olup, -5°C ile -30 °C sıcaklıklara varan dayanıklılığa sahiptir (Tosun, 2012). Nem isteği yüksek olan bu yabani tür ülkemizde özellikle Batı, Orta Karadeniz ve İç Anadolu'nun kuzey kesimlerinde doğal olarak yetişmektedir (Polat ve Güney 2015; Ayan ve ark., 2016; Korkut ve ark., 2008).

C. colurna'nın en önemli özelliklerinden biri ülkemizde en çok yetiştirilen tür olan *Corylus avellana*'ya anaç olarak kullanılmasıdır (Molnar, 2011). *C. colurna*, diğer fındık türlerinden çok daha az kök ve dip sürgünü oluşturduğu için başta *C. avellana*'nın kültür çeşitleri ile de genellikle iyi uyduğu için dolayı tek dal dikim sisteminde en değerli anaç olarak kullanılmaktadır (Ayfer ve ark., 1986; Botta ve ark., 2019). Meyveli olduğu için yabani hayatın besinini oluşturur ve biyoçeşitliliğe katkı sağlar. Meyveleri doğrudan tüketilebildiği gibi şeker yapımında da kullanılmaktadır (Arslan, 2006). Ayrıca tek dal yapısına sahip iyi gelişen ve odun dokusunun kırmızımtırak olması sebebiyle mobilyacılıkta ve peyzajda süs bitkisi olarak kullanılmaktadır (Molnar, 2011).

Bitkiler, insan ve hayvan hastalık ve zararlılarının yanı sıra çeşitli bitki hastalık ve zararlılarının kontrol etmek için kullanılan birçok farklı biyoaktif bileşik içeren değerli kaynaklardır (Alamri ve Moustafa, 2012; Lin ve ark., 2000). *C. colurna* yaprakları içerdiği kuersetin, mirisetin, 1-kafeoilkinik asit, 1,3-dikafeoilkinik asit, kateşin ve kaempferol gibi hidroksisinnamik asit türevleri, flavonoid türevleri ve diarilheptanoidler (Benov ve Georgiev, 1994; Riethmüller ve ark., 2014) ile halk hekimliğinde egzama, kızarıklık, şişlik, flebit, varis ve hemoroid semptomlarının tedavisinde kullanılmaktadır (Riethmüller ve ark., 2016). Ayrıca, *C. colurna*

yapraklarının Gram-pozitif ve gram-negatif bakterilere karşı antibakteriyel (Ceylan ve ark., 2013) ve antioksidan (Riethmüller ve ark., 2016) aktiviteye sahip olduğu belirlenmiştir. Günümüzde çeşitli bitkilerin ekstraktları metalik nanopartiküllerin sentezinde indirgeyici ve kaplayıcı ajan olarak kullanılmaktadır (Valli ve Vaseeharan, 2012).

Nanoteknoloji, nano boyutta (1 ile 100 nm arası) sentezi, nano malzemeleri ve fiziksel, kimyasal ve biyolojik sistemlerin tek tek atomlardan veya moleküllerden mikron altı boyutlara kadar değişen ölçeklerde uygulanmasını ve ayrıca ortaya çıkan nano malzemelerin daha büyük sistemlere entegrasyonunu kapsayan disiplinler arası bir araştırma alanıdır (Bhushan, 2017). Nano boyut aralığı içerisinde, malzemelerin özellikleri makroskopik ölçekten tamamen farklı olup, nano ölçeğe yaklaştıkça malzemelerin birçok yeni ve yararlı özellikleri ortaya çıkmaktadır. Özellikle nano boyuttaki malzemelerin yüzey/hacim oranlarının artmasıyla birlikte yüzey enerjisi artmakta ve daha reaktif hale gelmektedir. Boyutlarından kaynaklanan bu gelişmiş özellikleri ile nano malzemelerin ve nanopartiküllerin kullanımı hızla yaygınlaşmaktadır. Nanoteknoloji günümüzde sağlık, kozmetik, biyomedikal, yiyecek, ilaç-gen etkileşimi, çevre, mekanik, optik, kimyasal endüstriler, elektronik, uzay endüstrisi, enerji bilimi gibi pek çok alanda kullanılmaktadır (Ikram ve ark., 2015). Ayrıca son yıllarda nanoteknoloji tarım alanında da nanogübre, nanobiyosensör ve nanopestisit olarak kullanım imkanları araştırılmaktadır (Panpatte ve Jhala, 2019; Duncan, 2011; Kuswandi, 2016; Ebin ve ark., 2013).

Nanopartikül sentezi, (1) aşağıdan yukarıya sentez (Bottom-up synthesis) ve (2) yukarıdan aşağıya sentez (Top-down synthesis) şeklinde iki ana gruba ayrılmaktadır.

Aşağıdan yukarıya doğru yöntemde birleştirerek sentezleme yapılır. Atomik veya moleküler yapılar kimyasal ve biyolojik yöntemlerle birleştirilerek nano boyuta çıkarılır. Aşağıdan yukarıya olan yöntemde; asal gaz yoğunlaştırma, alev sentezi, kimyasal buhar yoğunlaştırma, moleküler hüzme, atom tabaka çökmesi, yanma, yağ kimyasal sentez elektro-patlama, lazer ablasyonu, sol-jel ve ultasonik sprey proliz gibi üretim yöntemleri kullanılmaktadır (Luther, 2006; Ateş ve Bahçeci, 2015; Tüylek, 2016).

Yukarıdan aşağıya yöntemde ise hacimsel malzemeye mekaniksel veya kimyasal işlemlerle enerji vererek nanoboyuta indirgenmesi sağlanmaktadır. En genel olarak fiziksel aşındırma ve mekaniksel öğütme bu yönteme örnek olarak verilebilir. Ancak bunların dışında elektro patlama, dağlama, ısı (termik) yöntem, dönen soğuk yüzeyde katılaştırma, gaz atomizörü, yüksek enerji, litografi aşırı ultraviyole ve yumuşak litografi gibi yöntemler de kullanılmaktadır (Ebin, 2008; Ateş, 2015; Tüylek, 2016).

Ayrıca nanopartikül sentezi fiziksel, kimyasal ve biyolojik olarak üç kısma ayrılır. Fiziksel, kimyasal ya da mikroorganizma (fungus, bakteri, alg vs.) ve bitkiler (kök, rhizom, yumru, kabuk, yaprak, çiçek, meyve ve tohum) kullanılarak biyolojik yöntemler (yeşil sentez) ile nanopartikül sentez edilebilmektedir. Fiziksel yöntemler ile nanopartikül eldesinde yüksek enerjiye ihtiyaç duyulmaktadır. Diğer taraftan kimyasal yöntemlerde ise genellikle yüksek miktarda toksik kimyasallar kullanılmaktadır. Ayrıca sentez ürününün parçacık reaktivitesi ve toksisitesi arttığından insan sağlığına ve çevreye zarar verebilecek farklı kimyasal moleküllerin oluşmasına neden olabilmektedir (Goia ve Matijevic 1998; Taleb ve ark., 1997; Esumi ve ark., 1990; Henglein, 2001; Zhu ve ark., 2000; Pastoriza ve Liz-Marzan, 2002; Guilger ve ark., 2019). Halbuki yeşil sentez (biyolojik yöntem) ile, nanopartiküllerin eldesinde, kimyasal indirgeyici ajanların yerini çeşitli bitki ekstraktları, fungus ve bakteri gibi canlı varlıklar kullanılmaktadır. Yeşil sentez basit, hızlı, güvenilir, toksisite içermemesi ve çevre dostu olması nedeniyle nanopartikül sentezinde tercih edilmektedir (Kröger ve ark., 1999; Ahmad ve ark., 2003; Shahverdi ve ark., 2007; Siddiqi ve ark., 2018). Bununla birlikte, biyolojik kaynaklardan mikroorganizmalar kullanılarak nanopartikül sentez süreci oldukça yavaş ve düşük verimlidir. Ayrıca mikroorganizmaların örneklenmesi, izolasyonu, çoğaltılması ve sürdürülmesi gibi bir takım ilave süreçleri de bünyesinde barındırmaktadır (Lin ve ark., 2010). Tüm bu nedenlerden ötürü, metalik nanopartiküllerin sentezinde bitkisel kaynaklı ürünlerin kullanılması makul, elverişli ve pratik bir seçenek haline gelmektedir. Ayrıca, bitkiler polifenoller (flavonoidler, fenolik asit ve terpenoidler), organik asitler ve proteinler gibi indirgeyici ajanların yanı sıra sentezi kolaylaştıran kaplayıcı ajanlar olarak da hizmet eden biyolojik olarak aktif birçok bileşiğe de sahiptirler (Nath ve Banerjee, 2013; Ovais ve ark., 2018). Günümüzde çeşitli bitkiler kullanılarak sentez edilen

metalik nanopartiküllerin bitki hastalık etmenlerine karşı toksik aktivite gösterdiği rapor edilmiştir (Mishra ve Singh, 2015).

Dünyada tarımsal üretimi sınırlayan en önemli faktörlerden biri toprak kökenli funguslardır (Agrios, 2005). Bu funguslardan *Phytophthora* sp., Straminipila (Chromista) aleminde Oomycota bölümü, Peronosporales takımı ve Peronosporacea familyası üyesidir. *Phytophthora* cinsi tarımda ve doğal ekosistemlerdeki orman ağaçlarında çok çeşitli gıda, yem ve süs bitkilerini enfekte eden yüzden fazla tür içerir (Kroon ve ark., 2012). Örneğin yanıklığa, kök ve gövde çürümmesine ve meyve çürümmesine neden olan *Phytophthora capsici*, patlıcangiller, kabakgiller ve baklagiller dahil, salatalık, patlıcan, domates, biber, balkabağı, kabak, kavun, kabak, lima ve kuru fasulye gibi bitkileri enfekte eder. *P. cactorum*'un 60 bitki familyasına ait 200'den fazla türde çökerten veya kök çürüklüğü, meyve ve sürgün çürüklüğü gibi çeşitli hastalıklara neden olduğu kaydedilmiştir. Öte yandan 1000'den fazla bitki ile en geniş konukçu yelpazesine sahip olan *P. cinnamomi* ise özellikle kozalaklı ağaçlar ve okaliptüs gibi odunsu konukçularda ciddi hastalıklara neden olmaktadır. Ayrıca birçok *Phytophthora* türü, konukçu bitkilerin yokluğunda toprakta dinlenme miselyumu, zoospor kistleri, kışlayan zoosporangia, klamidosporeler veya oosporlar gibi çeşitli yapılar oluşturur veya *P. cinnamomi* gibi diğerleri toprakta saprofit olarak da yaşayabilir (Webster ve Weber, 2007).

Dünya çapında *Phytophthora* sp.'nin oluşturduğu hastalıklardan kaynaklanan ürün kayıplarının milyarlarca dolar olduğu tahmin edilmektedir (Wawra ve ark., 2012). *Phytophthora* hastalıkları ile mücadelede genelde kültürel önlem olarak ekim nöbeti, bitki artıklarının toplanması ve imhası, kullanılan alet ve ekipmanların düzenli olarak temizlenmesi ve dayanıklı çeşit kullanımı tavsiye edilmekte ve kimyasal mücadelede ise fungusitler kullanılmaktadır (Agrios, 2005). Ancak bu hastalıklarla mücadele, toprakta uzun yıllar canlılıklarını koruyabildikleri dayanıklı yapılarının olması (klamidospor, oospor vd.), hepsine karşı etkili fungusitlerin olmaması, fungusitlere karşı hızlı bir şekilde direnç kazanmaları ve kullanılan fungusitlerin maliyetlerinin yüksek olması nedeniyle oldukça zordur (Childers ve ark., 2015; Dobrowolski ve ark., 2008; Hu ve ark., 2005; Dobrowolski ve ark., 2008; Hu ve ark., 2008; Meng ve ark., 2011). Bu nedenle, günümüzde *Phytophthora*'ların neden olduğu hastalıkların mücadelesinde alternatif mücadele yöntemlerine ihtiyaç duyulmaktadır.

Bu alışmada, Türk findığı olarak bilinen yabani findık (*Corylus colurna*) bitkisinin yaprak ekstraktları kullanarak mikrodalga fırın aracılığıyla gümüş nanopartiküller (AgNP'ler) elde edilmiştir. AgNP'lerin sentez sürecine etki eden bağımsız değişkenleri optimize etmek için Yüz Merkezli Merkezi Kompozit Deney Tasarımı ve Yanıt Yüzey Metodolojisi kullanılmıştır. Sentez edilen AgNP'lerin 350-420 nm aralığındaki UV-Vis spektral alanı Tripezoid yöntemle hesaplanmıştır. Optimum koşullarda sentez edilen AgNP'lerin karakterizasyonu Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi (FT-IR) ve Transmisyon Elektron Mikroskop (TEM) analizleri ile yapılmıştır. Ayrıca optimum koşullarda sentez edilen AgNP'lerin antifungal etkinlikleri bazı *Phytophthora* (*Phytophthora cactorum*, *Phytophthora capsici*, *Phytophthora cinnamomi*, *Phytophthora citrophthora*, *Phytophthora palmivora* ve *Phytophthora nicotianae*) türleri üzerinde *in vitro* koşullarda araştırılmıştır. Böylece bu çalışma sonucunda, sentetik fungusitlere alternatif olarak kullanılabilecek yeşil sentez ile elde edilmiş AgNP'ler ile *Phytophthora* türlerine karşı daha etkili ve ekonomik bir mücadele yöntemi geliştirilmeye çalışılmıştır.

2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

Günümüzde yeşil sentez yöntemiyle nanopartikül eldesi dünya çapında büyük ilgi gören bir çalışma alanı haline gelmiştir (El- Shafey, 2020; Huang ve ark., 2020; Chaloupka ve ark., 2010). Bitki ekstraktları kullanılarak metalik nanopartikül sentezi temel olarak, belirli konsantrasyonlardaki gümüş tuz çözeltilerine bitki ekstraktları eklenerek, solüsyonda bulunan çeşitli birincil ve ikincil aktif metabolitlerin gümüş (Ag^{+1}) metalik iyonlarının Ag^0 değerliğine indirgemesi sonucu gerçekleşmektedir. Bitki ekstraktları ile gümüş (Ag) nanopartikül (NP) sentez edilip, karakterize edildiği ve antimikrobiyal aktivitelerinin (bakteri, fungus gibi) test edildiği çok sayıda çalışma bulunmaktadır.

Kumar ve ark. (2012) kara halile (*Therminalia chebula*) bitkisi kullanarak oda sıcaklığında AgNP sentez etmek için, 10 ml bitki ekstraktına 2 ml, 0.01 M, Ag_2SO_4 solüsyonu ekleyip karışım rengi kahverengine dönene kadar iyice çalkalamışlardır. Bu renk değişimi AgNP'lerin oluşumuna işaret olup, bu gözlem UV-Vis spektroskopi ile doğrulanarak AgNP'lerin 452 nm'de yüzey plazmon rezonans (SPR) zirvesi gözlenmiştir.

Bir başka çalışmada, yalancı sagu palmyesi (*Cycas*) bitki etkraktı kullanılarak geleneksel ısıtma yöntemi ile sentez edilen AgNP'lerin UV-Vis spektroskopisinde 449 nm'de pik verdiği gözlenmiştir (Jha ve Prasad, 2010).

Zencefil (*Zingiber officinale*) ekstraktının indirgeyici ajan olarak kullanıldığı bir çalışmada, Jahan ve ark., (2020) mikrodalga yöntemiyle hem gümüş hem de bakır (Cu) NP'ler sentez etmişlerdir. Elde edilen NP'lerin UV-Vis spektroskopisinde AgNP için 441 nm'de ve CuNP için ise 566 nm'de SPR değeri alınmıştır.

Günümüze kadar hem geneneksel ısıtma hem de mikrodalga fırın vasıtasıyla çeşitli bitkilerin ekstraktları kullanılarak çok sayıda AgNP sentez edilmiştir. Örneğin, yalancı tesbih ağacı (*Azadirachta indica*) (Shankar ve ark., 2004), *Aloe vera* (Chandran ve ark., 2006), hint ısırganı (*Acalypha indica*) (Krishnaraj ve ark., 2010), meskuite ağacı (*Prosopis juliflora*) (Raja ve ark., 2012), pelin otu (*Artemisia absinthium*) (Ali ve ark., 2015), ekmek ağacı (*Atrocarpus altilis*) (Ravichandran ve ark., 2016), japon kamelyası (*Camellia japonica*) (Karthik ve ark., 2017), tarla çörekotu (*Nigella arvensis*) (Chahardoli ve ark., 2018), kadın tuzluğu (*Berberis*

vulgaris) (Behravan ve ark., 2019), guaya meyvesi (*Psidium guajava*) (Le ve ark., 2021), ebegümeçi (*Malva parviflora*) (Al-Otibi ve ark., 2021) ve Mizuna (*Brassica rapa* var. *japonica*) (Akder ve ark., 2021)'nın yaprak ekstraktı; acı yavşan (*Teucrium polium*) (Ghojavand ve ark., 2020) ve mavi kelebek sarmaşığı (*Clitoria ternatea*) (Fatimah ve ark., 2020)'nın çiçek ekstraktı; ahududu (*Rubus glaucus*) (Kumar ve ark., 2017) ve siyah-beyaz abanoz (*Diospyros malabarica*) (Bharadwaj ve ark., 2021)'un meyve ekstraktı; muz (*Musa paradisiaca*) (Bankar ve ark., 2010)'un meyve kabuğu ekstraktı; tarçın (*Cinnamon zeylanicum*) (Sathishkumar ve ark., 2009), hint şeytan ağacı (*Alstonia scholaris*) (Shetty ve ark., 2014), mısır (*Zea mays*) (Villanueva ve ark., 2015) ve zargan (*Prosopis juliflora*) (Arya ve ark., 2018)'ın kabuk ekstraktı; zencefil (*Zingiber officinale*) (Venkatadri ve ark., 2020)'in rizom ekstraktı; çay (*Camellia sinensis*) (Vilchis-Nestor ve ark., 2008), ökaliptus (*Eucalyptus oleosa*) (Pourmortazavi ve ark., 2015) ve turnagagası (*Erodium cicutarium*) (Maghsoudy ve ark., 2019)'nın bitki ekstraktı; karanfil (*Syzygium aromaticum*)'in tomurcuk (Rajesh ve ark., 2018); kurkas (*Jatropha curcas*) (Bar ve ark., 2009), kulthi fasulyesi (*Macrotyloma uniflorum*) (Vidhu ve ark., 2011) ve graviola ağacı (*Annona muricata*) (Assunção ve ark., 2021)'nın tohum ekstraktı; hint sarmaşığı (*Pueraria tuberosa*) (Satpathy ve ark., 2018)'nın yumru ekstraktı; kadın tuzluğu (*Berberis vulgaris*) (Behravan ve ark., 2019)'nın kök ekstraktı AgNP'lerin yeşil sentezinde kullanılmıştır.

Bitkilerin tamamı ya da çeşitli kısımları kullanılarak sentez edilen AgNP'lerin UV-Vis spektroskopisinde genellikle absorpsiyon piklerinin 400-490 nm'de olduğu gözlenmiştir. Ayrıca bu bitkilerden sentez edilen AgNP'lerin bazılarının antimikrobiyal aktivite sergilediği rapor edilmiştir.

Pelin otu (*Artemisia absinthium*) ekstraktını indirgeyici ajan olarak kullanılarak sentez edilen AgNP'lerin antifungal etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada, *in vitro* denemelerde *Phytophthora parasitica*, *P. infestans*, *P. palmivora*, *P. cinnamomi*, *P. tropicalis*, *P. capsici* ve *P. katsurae*'nin miselyal gelişmesini 10 µg ml⁻¹ konsantrasyonda engellediği belirlenmiştir. Ayrıca doz-response çalışmalarında *P. parasitica* ve *P. capsici*'ye karşı sentez edilen AgNP'lerin oldukça toksik olduğu ve LC₅₀ değerlerinin sırasıyla 2.1 ve 8.3 µg ml⁻¹ olduğu belirlenmiştir. Bu dozlarda

fungusların miselyal gelişimi, zoospor çimlenmesi, çim tüpü uzaması ve zoospor üretimi tamamen engellenmiştir (Ali ve ark., 2015).

Kültür findığı (*Corylus avellana*) yaprak ekstraktı kullanılarak üretilen AgNP'lerin *Colletotrichum coccodes* ve *Penicillium digitatum*'un miselyal gelişmelerine sırasıyla kontrole kıyasla yaklaşık olarak %20 ve %59 oranında engellediği rapor edilmiştir (Eshghi ve ark., 2021).

Afrika kanarya bitkisi (*Aizoon canariense*) kullanılarak sıcak ve soğuk su ile elde edilen ekstraktlar ile sentez edilen AgNP'lerin *Alternaria alternata*, *Dreschlera holder*, *Fusarium oxysporum lycopersici*, *Penicillium expansum*, *Rhizoctonia solani*, *Phytium ultimum* ve *Macrophomina phaseolina*'ya karşı etkinliğinin karşılaştırıldığı çalışmada, sıcak su ekstraktından sentezlenen AgNP'lerin %10.17 ila %19.85 aralığında soğuk su ekstraktından daha yüksek antifungal etki gösterdiği belirlenmiştir (Moustafa ve ark., 2021).

Limon otu (*Aloysia citrodora*) yaprak ekstraktı ile sentezlenen AgNP'lerin *Pythium aphanidermatum*, *Paecilomyces formosus*, *Fusarium oxysporum* f.sp. *cumini*, *M. phaseolina* ve *Botrytis cinerea*'nın miselyum gelişmelerini önemli derecede azalttığı tespit edilmiştir (Hassanisaadi ve ark., 2022).

Portakal (*Citrus cinensis*) kabuğu ekstraktı kullanılarak kimyasal ve biyolojik yöntemler ile sentez edilen AgNP'lerin *M. phaseolina* üzerinde *in vitro* ve *in vivo* koşullarda etkisinin araştırıldığı bir çalışmada, AgNP'lerin (kemo-AgNP veya biyo-AgNP) ortalama büyüklüğünün 32-47 nm olduğu belirlenmiştir. Bitki ekstraktının fungal gelişmeyi engellemediği, ancak kemo-AgNP 100 ppm konsantrasyonda %60.5 oranında miselyal gelişmeyi engellerken, biyo-AgNP miselyal gelişmeyi %100 oranında engellemiştir. Sera denemelerinde ise Biyo-AgNP uygulamasının *M. phaseolina* tarafından oluşturulan çökerten ve kömür çürüklüğü simptomlarını azalttığı ve sağlıklı bitki sayısını arttırdığı gözlemlenmiştir (Mohamed ve Elshahawy, 2022).

Mango (*Mangifera indica*) yaprak ekstraktı ile sentezlenen AgNP'lerin *Colletotrichum gloeosporioides* üzerindeki etkisinin araştırıldığı bir çalışmada, AgNP'lerin 50, 100, 150 ve 200 ppm konsantrasyonlarda misel gelişimini sırasıyla 4.74±0.13 mm, 6.04±0.19 mm, 8.29±0.06 mm ve 9.12±0.30 mm çapında engellediğini

belirtmişlerdir (Patel ve Patel, 2022).

Yalancı tesbih ağacı (*Azadirachta indica*) yaprak ekstraktı ile sentez edilen AgNP'lerin farklı konsantrasyonlarının (5, 10, 15, 20, 25, 50 ppm) *Alternaria solani*'nin farklı izolatlarına karşı etkinliğinin araştırıldığı bir çalışmada, AgNP'lerin izolatlara karşı etkinliğinde farklılıklar olduğu ve 50 ppm AgNP konsantrasyonunda *in vitro* ve *in vivo* testlerde hastalık etmeninin %50 ila %70 oranında engellediği belirlenmiştir. Ayrıca düşük konsantrasyonda AgNP (5-10 ppm) uygulamalarının yapraklardaki fenolik bileşik miktarını arttırdığı tespit edilmiştir (Ansari ve ark., 2023).

Yapılan bir başka çalışmada çemen otu (*Trigonella foenum-graecum*) yaprak ekstraktı ile sentezlenen AgNP'lerin çeşitli bakteriler (*Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*) ve bazı funguslar (*Helminthosporium sativum*, *Fusarium solani*, *F. oxysporum*, *Alternaria alternata*, *Candida albicans*) üzerindeki etkinliği araştırılmıştır. AgNP'lerin boyutunun 9-57 nm olduğu belirtilmiştir ve test edilen tüm mikroorganizmalara karşı AgNP etkinliğinin en yüksek olduğu türlerin *H. sativum* ve *C. albicans* olduğu bildirilmiştir (Rizwani ve ark., 2021).

Dikenibik (*Amaranthus spinosus*) yaprak ekstraktı ile sentezlenen AgNP'lerin *Klebsiella pneumonia*, *P. aeruginosa*, *E. coli* ve *S. aureus* bakterilerine karşı etkinliğinin araştırıldığı bir çalışmada, AgNP'lerin yaklaşık 19.3±0.5 nm'lik bakteriyel aktiviteye sahip olduğu belirlenmiştir (Sebastian, 2022).

Ülkemizde yapılan nanopartikül (yeşil sentez) çalışmalarında son yıllarda artış görülmektedir. Araştırmacılar farklı bitki ekstraktları kullanarak AgNP'ler elde etmişler ve bunların farklı bakteri ve fungal patojenlere karşı etkinliklerini araştırmışlardır.

Öztürk ve Öztürk (2020) ıhlamur (*Tilia rubra*) ekstraktı kullanarak sentezledikleri AgNP'leri *C. albicans*'a karşı denediklerinde, fungusa karşı 20 µl'lik AgNP konsantrasyonunda en yüksek etkiyi elde ettiklerini belirtmişlerdir. Yapılan bir başka çalışmada fasulye yaprak, kök ve gövde ekstraktları ile AgNP sentezleyerek antifungal aktiviteleri çeşitli funguslara (*Colletotrichum* sp., *Fusarium oxysporum*, *F. acuminatum*, *F. tricinctum*, *F. graminearum*, *F. incarnatum*, *Rhizoctonia solani*, *Sclerotinia sclerotiorum* ve *A. alternata*) karşı test edilmiştir. Yaprak ekstraktı ile elde

edilen AgNP'lerin, kök ve gövde ekstraktları ile hazırlanan AgNP'lere göre daha yüksek antifungal aktivite sergilediği gözlenmiştir. AgNP'lerin düşük ($\sim 50 \mu\text{g ml}^{-1}$) konsantrasyonunun bile *F. tricinctum* ve *Colletotrichum* sp.'nin gelişimini baskılamada etkili olduğu belirlenmiştir (Ediz ve ark., 2021). Sırasıyla fıstık (*Pistacia vera*) (Eren ve Baran, 2019) ve gül yaprağı (*Rosa santana*) (Jahan ve ark., 2020) kullanılarak sentez edilen AgNP'lerin *E. coli* ve *S. aureus* bakterilerine karşı etkili bulunmuştur. Diğer taraftan enginar (*Cynara scolymus*), zahter (*Thymbra spicata*) ve nane (*Mentha piperita*) bitki ekstraktları kullanılarak üretilen AgNP'lerin *Bacillus cereus*, *S. aureus*, *E. coli* ve *Staphylococcus typhimurium* bakterilerini bir dereceye kadar engelledikleri belirlenmiştir (Erci ve ark., 2018). Ayrıca, Jahan ve ark. (2020) indirgeyici ajan olarak zencefil (*Zingiber officinale*) ekstraktı kullanarak sentez ettikleri Ag ve CuNP'leri *S. aureus* ve *E. coli* bakterilerine karşı denediklerinde, her iki NP'in bakteriyel patojenleri çeşitli oranlarda engellediğini rapor etmişlerdir.

Yapılan çalışmalarda nanopartiküllerin morfolojik ve fizikokimyasal özelliklerinin antimikrobiyal (hem antifungal hem de antibakteriyel) etkinlikleri için oldukça kritik bir role sahip olduğu gözlenmiştir. Genelde küçük boyut dağılımına sahip NP'lerin, yığın halde (agregatlaşmış) olanlara kıyasla daha yüksek reaktif yüzey/hacim oranına sahiptir. Küçük NP'lerin bu ayırt edici özelliği, hücresel yapılarla etkileşimlerinin kolaylaştırdığından, mikrobiyal hücrelerde daha güçlü antimikrobiyal etki gösterdikleri belirlenmiştir. Ayrıca AgNP'lerin CuNP'lerden daha güçlü antimikrobiyal etkinlik göstermesinin bununla ilgili olabileceği rapor edilmiştir (Buzea ve ark., 2007; Jia ve ark., 2012; Jahan, 2019).

Loo ve ark. (2012) çay (*Camellia sinensis*) yapraklarından elde edilen ekstrakt kullanılarak AgNP'ler sentez ettikleri çalışmada, AgNP'leri, UV-Vis spektroskopisi, X-ışını kırınımı (XRD), transmisyon elektron mikroskobu (TEM) ve Fourier dönüşümü kızılötesi (FT-IR) spektroskopisi ile karakterize etmişlerdir. Sentez edilen AgNP'lerin yüz merkezli kübik yapıya sahip olduğu ve partikül boyutunun 4 nm olduğu belirlenmiştir.

Tarhun (*Artemisia dracunculus*) bitkisinin ekstraktı kullanılarak sentez edilen gümüş montmorillonit nanokompozit malzemenin TEM analizlerinde ortalama parçacık boyutunun 25.12 nm olduğu belirlenmiştir (Omid ve ark., 2018).

Khane ve ark. (2022) limon (*Citrus lemon*) kabuğu ekstraktı ile ürettikleri AgNP'leri (Taramalı Elektron Mikroskop (SEM), Dinamik Işık Saçılımı (DLS), Enerji Dağılımı X ışını Analizi (EDX), X Işını Kırılımı (XRD), Ultraviyole Görünür Işık Spektroskopisi (UV-Vis), Taramalı Elektron Mikroskop (TEM) ve Zeta Potansiyeli ile karakterize etmişlerdir. Sentez edilen AgNP'lerin SPR değerinin 535.5 nm'de ve boyutunun ise 7-28 nm olduğu belirlenmiştir.

Yapılan başka bir çalışmada, TEM analizleri kantakari (*Solanum xanthocarpum*) meyve ekstraktı kullanılarak sentez edilen AgNP'lerin ortalama parçacık boyutunun 22.45 nm ve şeklinin küresel olduğunu göstermiştir (Pungle ve ark., 2023).

Soğan (*Allium cepea*) kabuk ekstraktı ile sentezlenen AgNP'lerin TEM analizleri, partiküllerin polidisperdisite gösterdiği ve boyutlarının 8.44 ve 19.93 nm arasında değiştiğini göstermiştir (Baran ve ark., 2023).

Malabar ıspanağı (*Basella alba*), fırlıdak çiçek (*Tabernaemontana divaricata*) ve yeşil soğan (*Allium fistulosum*) ekstraktları ile sentez edilen AgNP'lerin TEM analizi sonucunda AgNP boyutlarının sırasıyla 40 nm, 55 nm ve 57 nm olduğu gözlenmiştir (Vinodhini ve ark., 2022).

Mikrodalga fırının NP'lerin sentez hızına etkisinin araştırıldığı bir çalışmada, dağ düğüm otu (*Aerva lanata*) bitkisinin yaprak ekstraktı kullanılarak altın (Au) ve gümüş (Ag) nanopartiküller sentez edilmiştir. Mikrodalga ile ısıtmanın nanopartikül oluşum hızı üzerindeki etkisi oda koşullarında sentez edilen nanopartiküller ile kıyaslanmıştır. Çalışma sonunda, mikrodalga ile nanopartikül sentezinin önemli bir zaman tasarrufu sağladığını belirlenmiştir. Ayrıca sentez edilen AuNP'lerin 18.62 nm ve AgNP'lerin ise 17.97 nm boyutlarında olduğu belirtilmiştir (Joseph ve Mathew, 2015).

Bir başka çalışmada, mikrodalga fırın vasıtasıyla ökaliptus (*Eucalyptus globulus*) yaprağı ekstraktı aracılığı ile sentez edilen AgNP'ler UV-Vis spektroskopisi, XRD, TEM, SEM-EDX, TGA (Termogravimetrik Analiz) ve FT-IR analizleri ile karakterize edilmiştir. Mikrodalga ile sentez edilen AgNP'lerin 1.9-4.3 nm boyutlarındayken, geleneksel ısıtma yöntemi ile sentez edilen AgNP'lerin 5-25 nm boyutlarında olduğu gözlenmiştir. Ayrıca geleneksel ısıtmaya kıyasla mikrodalga'nın

reaksiyon hızını 20 kat arttırdığı ifade edilmiştir (Ali ve ark., 2015).

Nanopartikül sentez süreçlerinde etkili olan pH, sıcaklık, ekstrakt ve metalik tuz konsantrasyonu ve reaksiyon süresi gibi faktörler oldukça hayati öneme sahiptir. Bu parametrelerin optimize edilmesi, herhangi bir sentez prosedürünün geliştirilmesinde kritik bir adım olarak değerlendirilmektedir (Pourmortazavi ve ark., 2015). Matematiksel modellerin ve istatistiksel analiz yöntemlerinin birlikte kullanılarak yüksek verimin uygun ekonomik koşullarda elde edildiği optimum koşulların belirlenmesi için bağımsız değişkenlerin optimizasyonu bu sürecin en önemli basamağıdır.

Kahrilas ve ark. (2014) mikrodalga fırın aracılığıyla çeşitli turunçgil türleri (portakal, greyfurt, tangelo, limon ve misket limonu)'nin kabuk ekstraktlarını kullanarak AgNP'ler sentez ettikleri çalışmada, sentez faktörleri olan zaman, sıcaklık ve basınç koşulları bir RSM yöntemi olan Box-Behnken tasarımı ile optimize etmişlerdir. Çalışma sonucunda AgNP'lerin sentezi için optimum koşullar sırasıyla 15 dk, 90 °C ve 15 psi olarak belirlenmiştir. Ayrıca AgNP'lerin sentezinde sadece portakal kabuğu ekstraktı başarılı bulunmuştur. AgNP'lerin karakterizasyonu UV-Vis spektroskopisi, XRD, floresan emisyon spektroskopisi (FS) ve TEM ile doğrulanmış ve ortalama partikül boyutunun 7.4 nm olduğu bildirilmiştir.

3. MATERYAL ve YÖNTEM

3.1 Çalışmada Kullanılan Materyaller

3.1.1 Bitki Materyali

Çalışmada bitki materyali olarak kullanılan Türk fıncığı (*Corylus colurna*) bitkisinin yaprak örnekleri Ordu ili Gülyalı ilçesinden toplanmıştır.

3.1.2 Kimyasallar ve Besin Ortamları

Gümüş nitrat (AgNO_3), hidroklorik asit (HCl), sodyum hidroksit (NaOH), etil alkol, Agar agar (Merck KGaA, Darmstadt, Almanya) ve V8- sebze suyu agar çalışmanın kimyasal ve besin ortamını oluşturmaktadır.

3.1.3 Funguslar

Çalışmada kullanılan *Phytophthora* (*P. cactorum*, *P. capsici*, *P. cinnamomi*, *P. citrophthora*, *P. palmivora* ve *P. nicotianae*) türlerine ait izolatlar Ordu Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümü Fitopatoloji Anabilim Dalı Laboratuvarındaki fungal kültür koleksiyonundan temin edilmiştir.

3.2 Çalışmada İzlenecek Yöntem

3.2.1 Bitki Materyalinin Kurutulması

Araziden toplanan fıncık yaprakları üzerindeki kirliliği azaltmak için önce musluk suyu altında yıkanmış takiben de saf suda yıkanıp, etüvde (Ecocell LSIS-B2V/EC111, MMM Group, Almanya) 60°C de 3-5 gün kurutmaya bırakılmıştır. Kuruyan bitki materyalleri daha sonra kullanılmak üzere polietilen torbalarda oda sıcaklığında ve karanlık bir ortamda saklanmıştır (Şekil 3.1).



Şekil 3.1 Fıncık Yapraklarının Araziden Toplanması, Kurutulması ve Saklanması

3.2.2 Fındık Yaprak Ekstraktının Elde Edilmesi

250 ml'lik beherlerin içersine daha önceden kurutulmuş fındık yaprağı örneğinden hassas terazide 5 gr tartılıp üzerine 100 ml saf su eklenerek manyetik karıştırıcılı bir ısıtıcıda (MTOPS Ms300 Hsin Chu, Tayvan) 80°C'de 30 dk boyunca kaynatılmıştır. Daha sonra oda sıcaklığında soğutulan ekstrakt dört katlı bir tülbentten süzölmüştür. Takiben posa kısmı atılmış ve sıvı kısmı 100 ml'lik erlenler içersinde bir orbital karıştırıcı (Nüve SL 350, Nüve Sanayi Malzemeleri İmalat ve Ticaret A.Ş., Türkiye) üzerinde sırasıyla kaba filtre ve Whatman No.1 (Merck KGaA, Darmstadt, Almanya) filtre kağıdı aracılığıyla süzölmeye bırakılmıştır (Şekil 3.2). Elde edilen sıvı kısım 10000 rpm'de 10 dk. santrifüj (Hettich Mikro 220, Hettich EBA 200, Merck KGaA, Almanya) edilerek elde edilen süpernatantların, pH'ları (Hanna HI 2211, Hanna Instruments, Almanya) kontrol edildikten sonra kullanılıncaya kadar +4°C'de saklanmışır.

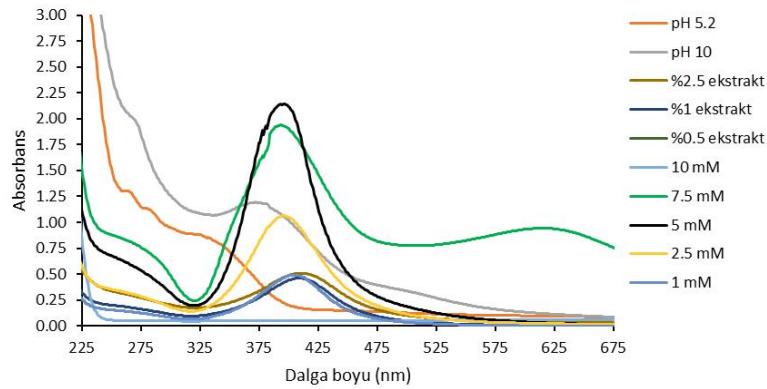
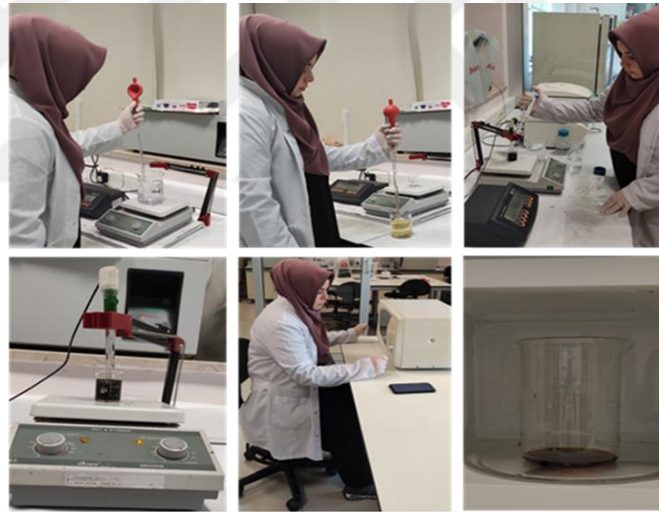


Şekil 3.2 Fındık Yaprak Ekstraktının Hazırlanma Aşamaları

3.2.3 Mikrodalga Fırın ile Fındık Yaprak Ekstraktından Gümüş Nanopartiküllerin Sentezi

İlk olarak mikrodalga fırın (MD 554, Arçelik, Koç Holding, Türkiye) aracılığı ile fındık yaprak ekstraktlarından AgNP'ler elde etmek için sentez süreci üzerine etki eden faktörlerin belirlenmesi amacıyla ön denemeler yapılmıştır.

Bu amaçla AgNO_3 tuzlarının farklı konsantrasyonları (1, 2.5, 5, 7.5, ve 10 mM), bitki ekstraktının farklı oranları (%0.5, %1 ve %2.5), ekstraktın farklı pH değerleri (5.2 ve 10) ve farklı reaksiyon süreleri dikkate alınarak 800 watt güç seviyesinde mikrodalga fırında sentez edilmiştir (Şekil 3.3). Bu süreç sonunda çözeltide meydana gelen renk değişiklikleri gümüş iyonlarının indirgendiğinin kanıtı olarak kabul edilmiş ve AgNP varlığı 200-700 nm dalga boyunda tarama yapan UV-Vis spektrofotometre (UV-Vis spektrofotometre, PerkinElmer Lambda 35, ABD) ile absorbans (A.U) olarak belirlenmiştir.



Şekil 3.3 Fındık Yaprak Ekstraktı ile Gümüş Nanopartikül Sentezi ve UV Spektrası

3.2.4 Yanıt Yüzey Yöntemi ile Sentez Parametrelerinin Optimizasyonu

Bu çalışmada Yanıt Yüzey Yöntemi kullanılarak fındık yaprak ekstraktı ile AgNP sentez sürecinin optimizasyonunda değişken parametrelerin etkilerinin belirlenmesi ve deney sayısını azaltmak amaçlanmıştır. Bu amaçla gümüş nanopartiküllerin yaklaşık 5-50 nm boyutlarında AgNP'lerin kantitatif varlığını temsil eden 350-420 nm dalga boylarındaki spektral eğri altındaki tahmini alan basit bir orta nokta kuralı (trapezoidal rule) Excel ile hesaplanarak farklı üretim parametreleri ile ilişkisini veren matematiksel formül tespit edilmiştir (Chowdhury ve ark., 2016). Deneysel tasarım ve istatistiksel analizler Design Expert (versiyon 13, Stat-Ease, Inc., USA) programı kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

Çalışmada AgNP sentezi için, AgNO_3 konsantrasyonu, bitki yaprak ekstraktının AgNO_3 konsantrasyonuna oranı ve mikrodalga fırın reaksiyon süresi(sn) olmak üzere 3 farklı bağımsız değişken optimize edilmiştir (Çizelge 3.1). Değişken parametrelerin yanıt üzerindeki etkilerinin belirlenmesinde Yüz Merkezli Merkezli Kompozit Tasarım (Face-Centered Central Composite Design, FCCCD) dizaynı kullanılmıştır. FCCCD dizaynına göre her bir bağımsız değişkenin 3 farklı seviyesi kullanılarak 6 tanesi merkez noktada olmak üzere toplam 20 deneme gerçekleştirilmiştir (Çizelge 3.2).

Regresyon analizlerin de eşitlik 1'de verilen 2. dereceden polinomial eşitlik kullanılmıştır. Bu eşitlikte Y, spektral alan (350-420 nm); X değerleri bağımsız değişkenleri (AgNO_3 konsantrasyonunu, bitki yaprak ekstraktının AgNO_3 konsantrasyonuna oranı ve reaksiyon süresini) ifade ederken; β değerleri ise regresyon katsayılarını göstermektedir.

$$y = \beta_0 + \sum_{i=1}^k \beta_i X_i + \sum_{i=1}^k \beta_{ii} X_i^2 + \sum_{i=1}^{k-1} \sum_{j=1}^k \beta_{ij} X_i X_j + \varepsilon$$

Program fonksiyonları belirlenirken; her bir basamakta 'sequential F-tests' ve 'Lack of fit' kontrolleri yapılmıştır. Ayrıca programın yanıt için önerdiği model belirlenirken R^2 (R squared) değeri, ayarlanmış R^2 (adjusted R squared) değeri ve öngörülen R^2 (predicted R squared) değerleri dikkate alınmıştır. Sonra önerilen fonksiyonların hangisinin daha iyi bir deneysel tasarımı modellediği ANOVA tabloları kullanılarak belirlenmiştir. Ayrıca en iyi modelleme yapan fonksiyon belirlenirken;

model (önemli), lack of fit (önemsiz), model terimleri [(Prob>F) <0.05], $R^2(\sim 1)$, adjusted $R^2(\sim 1)$, predicted $R^2(\sim 1)$, adjusted $R^2 \sim$ predicted R^2 , coefficient of variation (C.V, %; minimum) kriterlerinin tamamını en iyi şekilde karşılayacak fonksiyon seçilmiştir. Deneysel tasarımı modelleyen en iyi fonksiyon belirlendikten sonra, program tarafından RSM iki boyutlu (2D contour) ve üç boyutlu (3D response surface) grafikleri oluşturulmuştur.

Sentez için optimum koşullar belirlendikten sonra elde edilen nanopartiküller oda sıcaklığında tularak 15.000 rpm’de 10 dk. santrifüj edilmiş süpernatant kısmı atılmıştır. Dipte kalan kısım ise su ve etil alkol ile birkaç kez yıkandıktan sonra 80 °C’de etüvde 5 saat boyunca kurutulmuştur. Elde edilen toz kısım sonraki çalışmalarda kullanılmak üzere oda sıcaklığında karanlık bir ortamda saklanmıştır.

Çizelge 3.1 Gümüş Nanopartiküllerin Yeşil Sentezi İçin Belirlenen Bağımsız Değişkenlerin Alt ve Üst Sınır Değerleri

Kodlanmış	Bağımsız değişken	Birim	Min.	Max.	Seviye		Ortalama	Std. Hata
					Düşük	Yüksek		
A	AgNO ₃ konsantrasyonu	mM	1.0	5.0	1 ↔ 1.0	1 ↔ 5.0	3.0	1.45
B	Ekstrakt/AgNO ₃ oranı	-	0.1	0.5	1 ↔ 0.1	1 ↔ 0.5	0.3	14.51
C	Reaksiyon süresi	sn	10.0	90.0	1 ↔ 10.0	1 ↔ 90.0	50.0	29.02

Çizelge 3.2 Yüz Merkezli Merkezi Kompozit Tasarım (FCCCD)

Std	Run	AgNO ₃ (mM) (A)	Ekstrakt/AgNO ₃ Oranı (B)	Reaksiyon Süresi (sn) (C)
19	1	3	0.3	50
20	2	3	0.3	50
16	3	3	0.3	50
4	4	5	0.5	10
2	5	5	0.1	10
9	6	1	0.3	50
11	7	3	0.1	50
3	8	1	0.5	10
15	9	3	0.3	50
8	10	5	0.5	90
18	11	3	0.3	50
5	12	1	0.1	90
17	13	3	0.3	50
13	14	3	0.3	10
6	15	5	0.1	90
7	16	1	0.5	90
12	17	3	0.5	50
10	18	5	0.3	50
14	19	3	0.3	90
1	20	1	0.1	10

3.2.5 Sentez Edilen Gümüş Nanopartiküllerin Karakterizasyonu

3.2.5.1 UV-Vis Spektroskopisi

Sentez edilen AgNP'lerin absorbans spektrumları 200-1100 nm dalga boyu aralığında (1 nm aralık ile) tarama yapan UV-Vis spektrofotometre (PerkinElmer Lambda 35, ABD) ile belirlenmiştir. AgNP solüsyonları mikropipet yardımıyla quartz küvetlere alınıp, saf su ile 10 kat (veya ihtiyaç duyulursa daha yüksek oranlarda) seyreltildikten sonra, 200-700 nm aralığındaki spektrumları kaydedilmiştir (Şekil 3.4).



Şekil 3.4 UV-Vis Spektroskopisi

3.2.5.2 Fourier Dönüştümlü Kızılötesi Spektroskopisi (FT-IR)

Fındık yaprak ekstraktının ve optimum koşullarda fındık yaprak ekstraktı ile sentez edilen AgNP'lerin yapılarındaki farklı fonksiyonel gruplar hakkında bilgi edinmek için FT-IR spektroskopisi (PerkinElmer Spektrum 65, ABD) kullanılmıştır. Analiz için, sentezlenen AgNP'lerin ve bitki yaprak ekstraktının 1 mg'ları 200 mg KBr ile karıştırıldıktan sonra bir pelet halinde preslenerek ve örneklerin FT-IR spektrumları geçirgenlik modunda $4000-400\text{ cm}^{-1}$ dalga boyu aralığında tespit edilmiştir.

3.2.5.3 İletimli Elektron Mikroskobu (TEM)

Optimum koşullarda sentez edilen AgNP'lerin boyut ve morfolojik yapıları TEM (Hitachi HT7700, Hitachi Ltd., Japonya) analizi ile ayrıntılı olarak ortaya konulmuştur.

3.2.5.4 Sentez Edilen Gümüş Nanopartiküllerin Antifungal Etkinliklerinin Belirlenmesi

Optimum koşullarda sentez edilen AgNP'lerin antifungal aktivitesi 6 *Phytophthora* (*P.cactorum*, *P. capsici*, *P. cinnamomi*, *P. citrophthora*, *P. nicotianae* ve *P. palmivora*) türü üzerinde *in vitro* koşullarda Türkkan (2013)'ın yönteminin zayıf bir modifikasyonu ile belirlenmiştir.

Sentez edilen AgNP'lerin farklı konsantrasyonları (42.5, 85, 127.5, 212.5, 255, 297.5 ve 340 µg ml⁻¹) otoklavda sterilize edilmiş ve 50°C'ye soğutulmuş 50 ml'lik V8 agar ortamına eklenmiştir. AgNP'ler magnetik karıştırıcı ile karıştırılarak homojen bir şekilde tüm besin ortamına karışması sağlandıktan sonra 6 cm çapındaki cam petri kaplarına 10 ml olacak şekilde paylaştırılmıştır. Bu petriler, daha önceden besin ortamlarında geliştirilmiş olan 7 günlük fungus kültürlerinden mantar delici ile alınan 5 mm çaplı miselyal diskler ile inokule edilmiştir. Aynı koşullarda inkübe edilen kontrol grubu (sadece V8 agar besin ortamı içeren) petrilerdeki fungusların gelişmeleri günlük olarak izlenerek petriyi kaplamaya yakın olduğunda, kontrol ve AgNP'lerinin farklı dozlarını içeren petrilerdeki fungusların gelişimleri ortagonal (uzun ve kısa kenar) olarak dijital kumpas (TorQ 150 mm Digital Caliper, Çin) ile ölçülmüştür. Miselyal gelişmenin engellenmesi aşağıdaki formül kullanılarak % engelleme olarak hesaplanmıştır. Deneme her AgNP konsantrasyonu için 6 tekerrürlü olacak şekilde yapılmıştır.

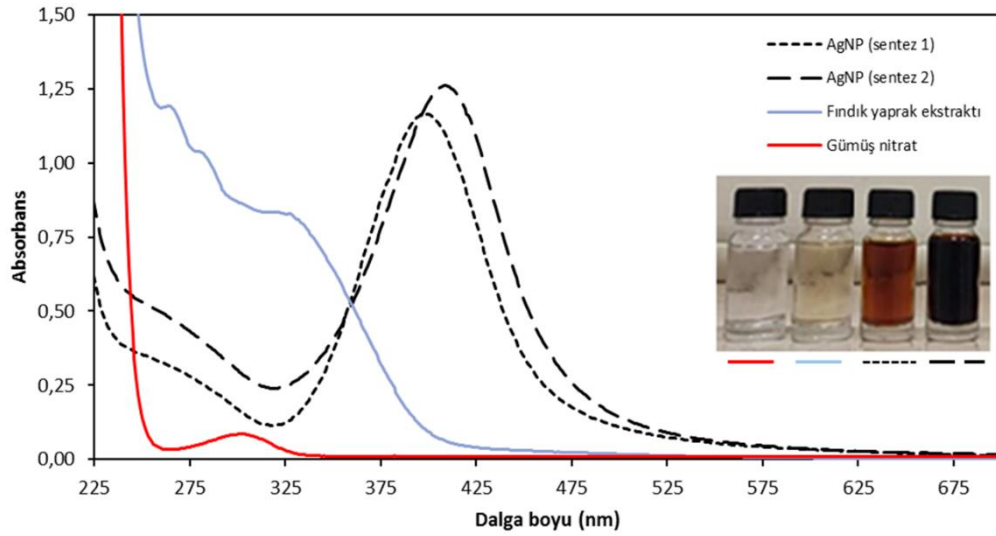
% Engelleme = [(kontrol petrilerindeki fungal gelişme-AgNP eklenmiş petrilerdeki fungal gelişme) / kontrol petrilerindeki fungal gelişme]*100

Fungusların miselyal gelişimlerini %50 oranında azaltan konsantrasyon (EC₅₀=etkili konsantrasyon)'u hesaplamak için probit analizi (IBM SPSS İstatistik Programı, versiyon 2019, New York, ABD) kullanılmıştır. Misel büyümesini tamamen engelleyen minimum inhibe eden konsantrasyon (minimum engelleyici konsantrasyon, MIC) değeri ise paralel denemelerle belirlenmiştir.

4. BULGULAR ve TARTIŞMA

4.1 Fındık Yaprak Ekstraktı ile Gümüş Nanopartiküllerin Mikrodalga Fırın Aracılığı ile Yeşil Sentezi

Fındık yaprak ekstraktının indirgeyici ajan olarak kullanıldığı bu çalışmada mikrodalga fırın aracılığı ile gümüş nanopartikül (AgNP)'lerin yeşil sentezi yapılmıştır. Başlangıçta renksiz olan AgNO_3 çözeltisinin üzerine bitki yaprak ekstraktı eklendikten sonra 800W'da 10-90 sn aralığında mikrodalgada AgNP sentez edilmiştir. Sentez ürünündeki renk değişimleri bize Ag^{+1} iyonlarının Ag^0 iyonlarına indirgendiğini göstermektedir. Bitki yaprak ekstraktı kullanılarak AgNP sentez işlemi sonucunda solüsyonlarda renk değişimi (açık ve koyu tonlarda) makroskobik olarak gözlenmiştir (Şekil 4.1). Ayrıca sentezlere ait tipik yüzey plazmon rezonans (SPR) değerine ait absorbansın 398 ve 411 nm'de olduğu UV-Vis spektrofotometre ile ortaya konmuştur.



Şekil 4.1 Mikrodalga Fırın ile Sentezlenen AgNP'lerin UV Spektralleri ve Solüsyondaki Renk Değişimi

Önceki çalışmalarda da hem geleneksel ısıtma yöntemleri hem de mikrodalga ile AgNP sentezinde ürünlerde renk değişimi rapor edilmiştir. Baran (2019), kiraz (*Prunus avium*) yaprağı ekstraktı kullanılarak oda koşullarında AgNP sentez ettiği çalışmada, başlangıçta sarı renkte olan kiraz yaprağı ekstraktının sentez sonrasında kahverengiye döndüğünü ve UV-Vis spektrasının 427 nm olduğunu belirlemiştir. Başka bir çalışmada çörek otu (*Nigella sativa*) ekstraktı kullanarak el ile çalkalama

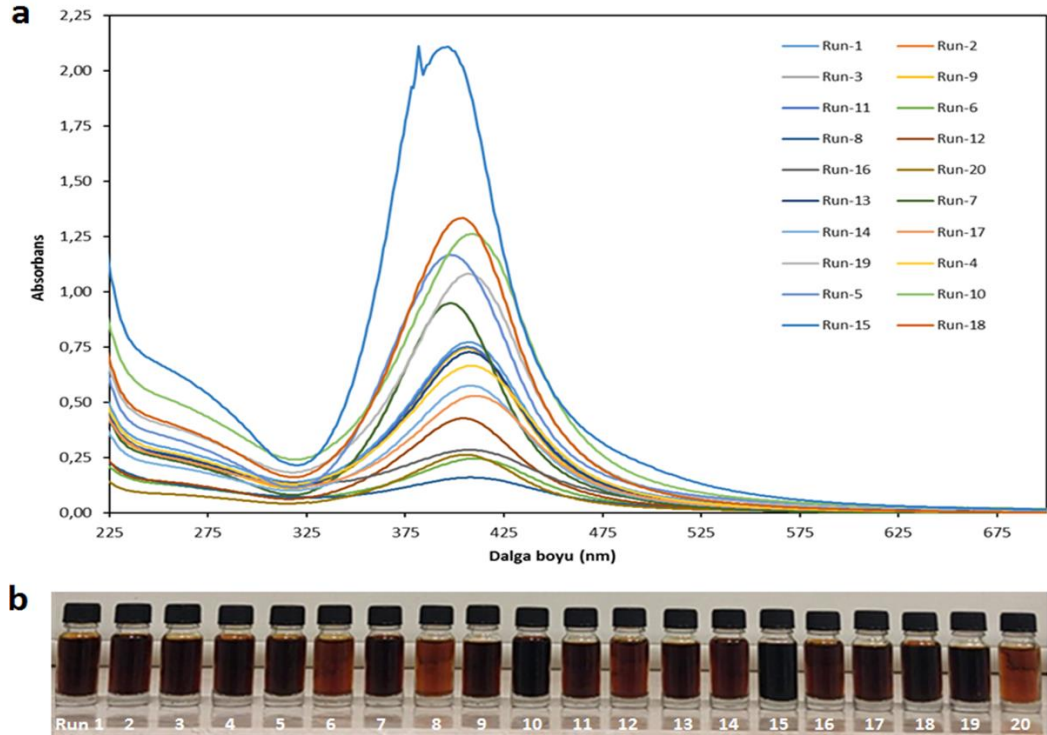
sonucunda AgNP sentezlendiği çalışmada, başlangıçta sarı renkte olan bitki ekstraktının sentez sonrasında kahverengine döndüğünü UV-Vis spektrasının ise 426.5 nm olduğu belirtilmiştir (Aktepe, 2021). Jahan ve ark. (2019)'nın gül (*Rosa santana*) petallerinden elde ettikleri ekstrakt ile mikrodalga yöntemini kullanarak AgNP sentez ettikleri çalışmada, ilk başta kırmızı olan ekstraktın sentez sonucunda koyu kahverenge döndüğünü belirtmişlerdir. Yine aynı araştırmacılar mikrodalga aracılığı zencefil (*Zingiber officinale*) ekstraktı ile sentez ettikleri AgNP ürününde de renk değişimini makroskobik olarak gözlemlemişler ve UV-Vis spektrasının 438 nm olduğunu ortaya koymuşlardır (Jahan ve ark., 2020).

Mikrodalğanın NP'lerin sentez hızına etkisinin araştırıldığı bir çalışmada, dağ düğüm otu (*Aerva lanata*) bitkisinin yaprak ekstraktı kullanılarak altın (Au) ve gümüş (Ag) nanopartiküller sentez edilmiştir. Mikrodalga ile ısıtmanın NP oluşum hızı üzerindeki etkisi oda koşullarında sentez edilen NP'ler ile kıyaslandığında, mikrodalga ile NP eldesinin önemli bir zaman tasarrufu sağladığını belirlemişlerdir. Ayrıca sentez edilen AuNP'lerin 18.62 nm ve AgNP'lerin ise 17.97 nm boyutlarında olduğu belirtilmiştir (Joseph ve Mathew, 2015).

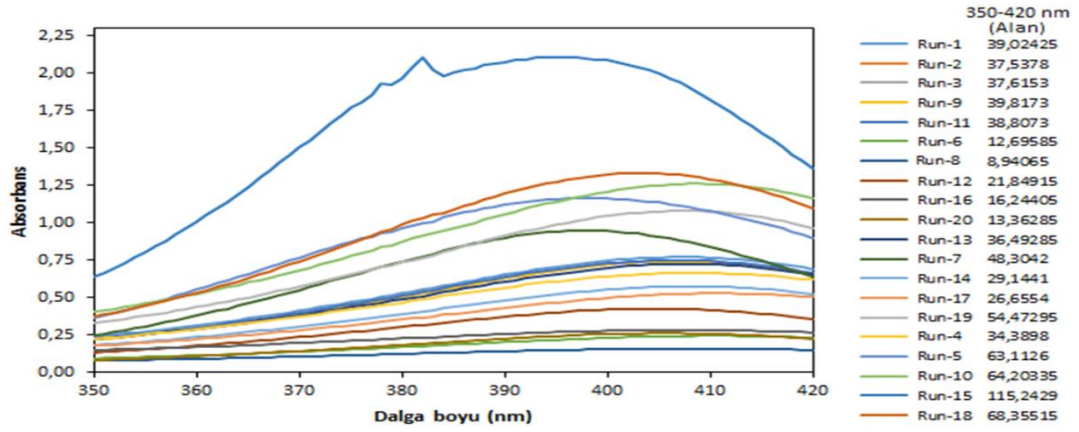
Bir başka çalışmada, ökaliptus (*Eucalyptus globulus*) yaprak ekstraktı ile AgNP'ler sentez edilmiştir. Geleneksel ısıtmaya kıyasla mikrodalğanın reaksiyon hızını 20 kat arttırdığı ve NP boyutunu yaklaşık 2.5 ila 6 kat küçülttüğünü belirlemişlerdir (Ali ve ark., 2015).

4.2 UV-Vis Spektrum Analizi

Sentez sonrası gümüş nanopartikül varlığı UV-Vis spektrum ölçümleri ile tespit edilmiştir. Fındık yaprak ekstraktı kullanılarak gümüş nanopartikül sentez işlemi tamamlandığında, AgNP'ler açık ve koyu kahverengi renk değişimi ile makroskobik olarak sentezlenen üründe gözlemlenmiş ve bunlara ait tipik yüzey plazmon rezonans (SPR) değerinin 396-411 nm aralığında olduğu UV-Vis spektrofotometre ile ortaya konmuştur. AgNP sentezinin göstergesi için spektral zirve aralığı literatürde 400-480 nm (Sneeran ve ark., 2008) arasında olduğu ve 350-420 nm aralığında AgNP büyüklüğünün yaklaşık 5-50 nm büyüklükte olduğu bildirilmiştir (Gurunathan ve ak., 2009; Noroozi ve ark., 2012). Çalışmada, gümüş nitratın farklı konsantrasyonları (1, 3 ve 5mM) ve bitki yaprak ekstraktının farklı oranları (%0.1, 0.3 ve 0.5) ile 10, 50 ve 90 sn reaksiyon sürelerinde sentez edilen 20 farklı sentezin UV-Vis spektralleri ve bunlara ilişkin sentezlerdeki renk değişimleri Şekil 4.2a ve 4.2b'de verilmiştir. Ayrıca Şekil 4.3'te 20 farklı sentezin 350-420 nm aralığındaki alanlarına ait trapezoidal hesaplamalar gösterilmiştir.



Şekil 4.2 Sentez Edilen AgNP'lerin UV-Vis Spektralleri (a) ve Renk Değişimleri (b)



Şekil 4.3 Sentez edilen AgNP’lerin 350-420 nm Aralığındaki Alanları (Trapezoidal Yöntem Kullanılarak Excel ile Hesaplanmıştır)

4.3 Optimum Noktanın Belirlenmesi

Deney tasarımı için Yanıt Yüzey Yöntemi kullanılmış ve 350-420 nm aralığındaki AgNP üretiminin maksimize edilmesi hedeflenmiştir. Bu amaçla Yüz Merkezli Merkezi Kompozit Tasarım (FCCCD) modeli kullanılarak bağımsız değişken olarak belirlenen parametrelerin (AgNO_3 konsantrasyonu, fındık yaprak ekstraktı/ AgNO_3 oranı, reaksiyon süresi) bağımlı değişken yani 350-420 nm spektral bölgesi altında kalan alan üzerine etkileri değerlendirilmiştir. Değişkenler ve bunların seviyeleri Çizelge 4.1’de verilmiştir.

Çizelge 4.1 Yüz Merkezli Merkezi Kompozit Tasarımı (FCCCD) ve Trapezoidal Alan Verileri

Run	A: AgNO_3 konsantrasyonu mM	B:Ekstrakt/ AgNO_3 oranı ml	C:Reaksiyon Süresi sn	Alan (350-420 nm)
1	3	0.3	50	39.0243
2	3	0.3	50	37.5378
3	3	0.3	50	37.6153
4	5	0.5	10	34.3898
5	5	0.1	10	63.1126
6	1	0.3	50	12.6959
7	3	0.1	50	48.3042
8	1	0.5	10	8.94065
9	3	0.3	50	39.8173
10	5	0.5	90	64.2034
11	3	0.3	50	38.8073
12	1	0.1	90	21.8492
13	3	0.3	50	36.4928
14	3	0.3	10	29.1441
15	5	0.1	90	115.243
16	1	0.5	90	16.2441
17	3	0.5	50	26.6554
18	5	0.3	50	68.3551
19	3	0.3	90	54.4729
20	1	0.1	10	13.3628

Deney tasarımının uygulanması sonucunda FCCCD modeline ait istatistiksel veriler değerlendirildiğinde, yazılımın quadratic modeli tavsiye ettiği belirlenmiştir (Çizelge 4.2).

Çizelge 4.2 FCCCD Model İstatistikleri

Model	Kareler Toplamı	df	Kareler Ortalaması	F-değeri	P-değeri	F-değeri (Lack of Fit)	P-değeri (Lack of Fit)	R ²	Ayarlanmış R ²	Tahminlen R ²
Mean vs Total	740.75	1	740.75							
Linear vs Mean	62.31	3	20.77	103.8	< 0.0001	29.73	0.0008	0.9511	0.942	0.8913
2FI vs Linear	2.61	3	0.8701	19.12	< 0.0001	7.05	0.0229	0.991	0.9868	0.9601
Quadratic vs 2FI	0.3749	3	0.125	5.76	0.0149	3.5	0.0978	0.9967	0.9937	0.9659
Cubic vs Quadratic	0.1686	4	0.0421	5.24	0.0367	0.0051	0.9457	0.9993	0.9977	0.9981
Residual	0.0483	6	0.008							Aliased
Total	806.27	20	40.31							

Çizelge 4.3’de yer alan quadratik modele ait F değerinin yüksek ve p değerinin ise 0.0001’den düşük olması modelin tahmin etme yeteneğinin güçlü olduğunu göstermektedir. Model terimlerinden A, B, C, AB, AC ve A² ve C²’nin önemli olduğu görülmektedir (P<0.05). Ayrıca Lack of fit değeri (0.0978)’nin önemsiz olduğu belirlenmiştir. Bu değerler bize modelin tahminleme gücünün yüksek olduğunu göstermektedir. Diğer taraftan modele ait hem R² değeri (0.9966) hem de ayarlanmış R² değeri (0.9937) oldukça yüksektir. Önceki çalışmalar R² değerinin 1’e yakın olması istatistiksel modelin uygun olduğunun bir göstergesi olduğu rapor edilmiştir (Reddy ve ark., 2008). Tüm bu sonuçlar bize deneysel ve tahmini sonuçlar arasındaki uyumun oldukça iyi olduğunu göstermektedir.

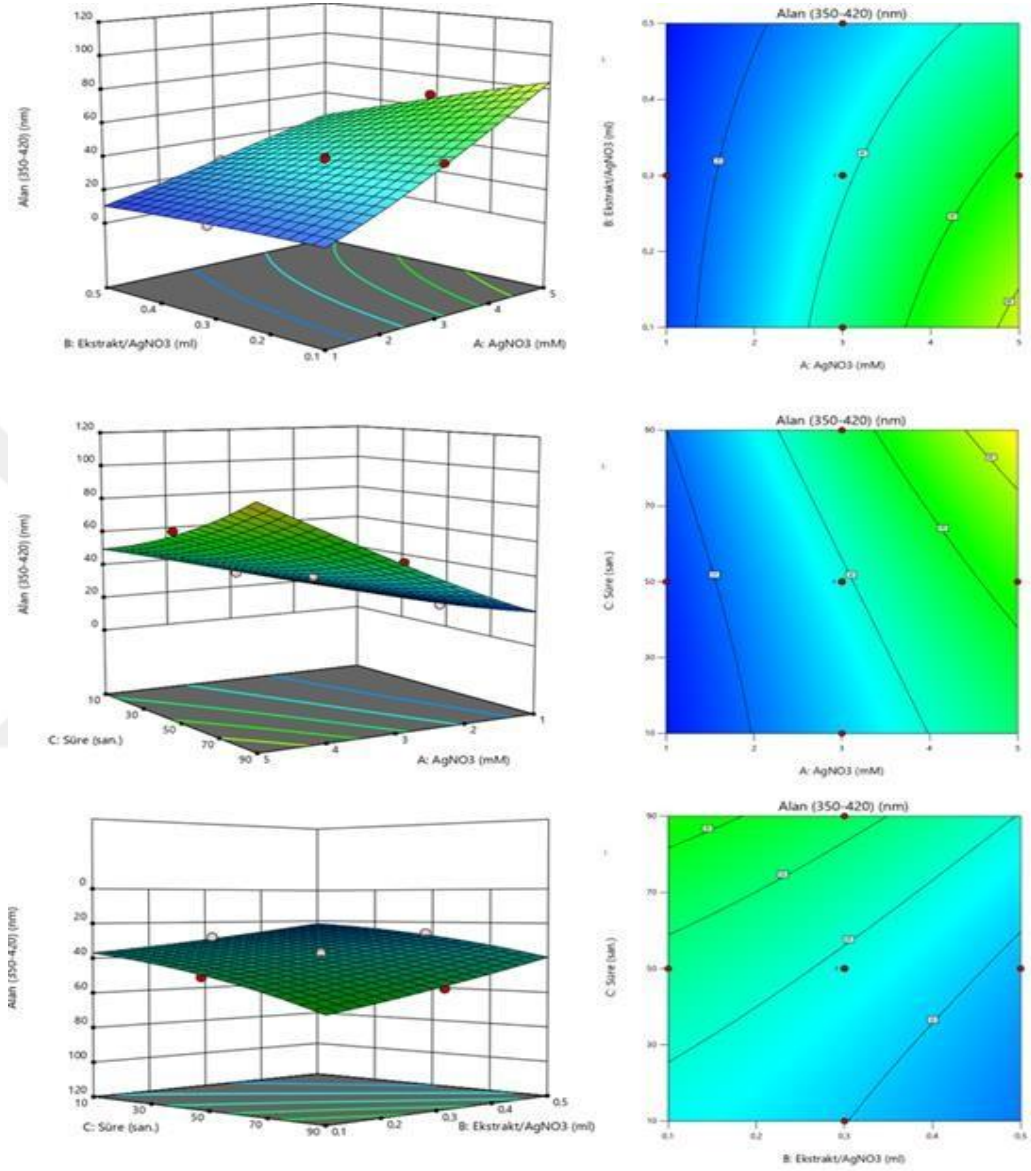
Çalışmada, yanıtlar arasındaki maksimum (115.243) minimuma (8.94065) oranı 10’dan büyük olduğu için veri dönüşümü gerekmektedir. Bu nedenle, istatistiksel analizden önce, kare kök (transformasyonu) kullanılarak yanıtlar normal dağılıma uyacak şekilde dönüştürülmüştür. Bu quadratik (ikinci dereceden) modelin önemi, varyans analizi (ANOVA) kullanılarak değerlendirilmiştir.

Çizelge 4.3 Quadratic Modele ait ANOVA Analizleri

	Kareler Toplamı	df	Kareler Ortalaması	F-değeri	p-değeri	
Model	65.3	9	7.26	334.58	< 0.0001	önemli
A-AgNO ₃ konsantrasyonu (mM)	48.01	1	48.01	2213.89	< 0.0001	
B-Extrakt/AgNO ₃ oranı	6.24	1	6.24	287.74	< 0.0001	
C-Reaksiyon süresi (sn.)	8.06	1	8.06	371.9	< 0.0001	
AB	1.53	1	1.53	70.34	< 0.0001	
AC	1.04	1	1.04	47.82	< 0.0001	
BC	0.0482	1	0.0482	2.22	0.1669	
A ²	0.2	1	0.2	9.22	0.0125	
B ²	0.0455	1	0.0455	2.1	0.1781	
C ²	0.1149	1	0.1149	5.3	0.0441	
Residual	0.2168	10	0.0217			
Lack of Fit	0.1686	5	0.0337	3.5	0.0978	önemsiz
Pure Error	0.0482	5	0.0096			
Cor Total	65.51	19				
R²	0.9967					
Ayarlanmış R²	0.9937					
Tahminlenen R²	0.9659					

Çalışmada AgNP üretimi üzerine değişken ve onların karşılıklı etkileri arasındaki ilişkiyi göstermek için 3D ve 2D kontur grafikleri kullanılmıştır. AgNO₃ konsantrasyonu ve findık yaprak ekstrakt/AgNO₃ oranı arasındaki ilişki Şekil 4.4'te verilmiştir. Bu grafiğe göre AgNO₃ konsantrasyonu arttıkça sentez edilen AgNP üretiminin (350-420 nm aralığında) alanı da artmaktadır. Ancak ekstrakt/AgNO₃ miktarının artması bu durum paralelinde değildir. Dolayısıyla AgNO₃ konsantrasyonu 5 mM ve ekstrakt/AgNO₃ oranı 0.1 olduğunda alan maximum olmaktadır. Diğer taraftan AgNO₃ konsantrasyonuna paralel olarak reaksiyon süresi de arttıkça alan (AgNP üretim miktarı) büyümektedir. Ancak reaksiyon süresine paralel olarak ekstrakt/AgNO₃ oranı arttıkça alan artmamakta, tersine azalış göstermektedir. Bu bulgular Cai ve ark. (2017)'nin sonuçları ile uyumlu olup, mikrodalga fırın güç ve sentez süresini ayarlayarak 700-850 watt/dk. 100 ml'lik solüsyonda yüksek kalitede AgNP üretiminin gerçekleştiği belirlenmiştir. Dahası daha düşük güç durumlarında gümüş iyonlarının tamamen indirgenemeyeceğini ve bununla daha düşük AgNP üretimi ile sonuçlandığını belirtmişlerdir. Saleeb ve ark. (2020) AgNO₃ konsantrasyonunun ve sentez süresinin SPR üzerindeki etkilerinin benzer olduğunu ve her ikisinin de artışına paralel olarak AgNP kalitesinin arttığını tespit etmişlerdir. Ayrıca AgNP sentezi için Krishnaraj ve ark. (2012) 6 ml yalancı tesbih ağacı

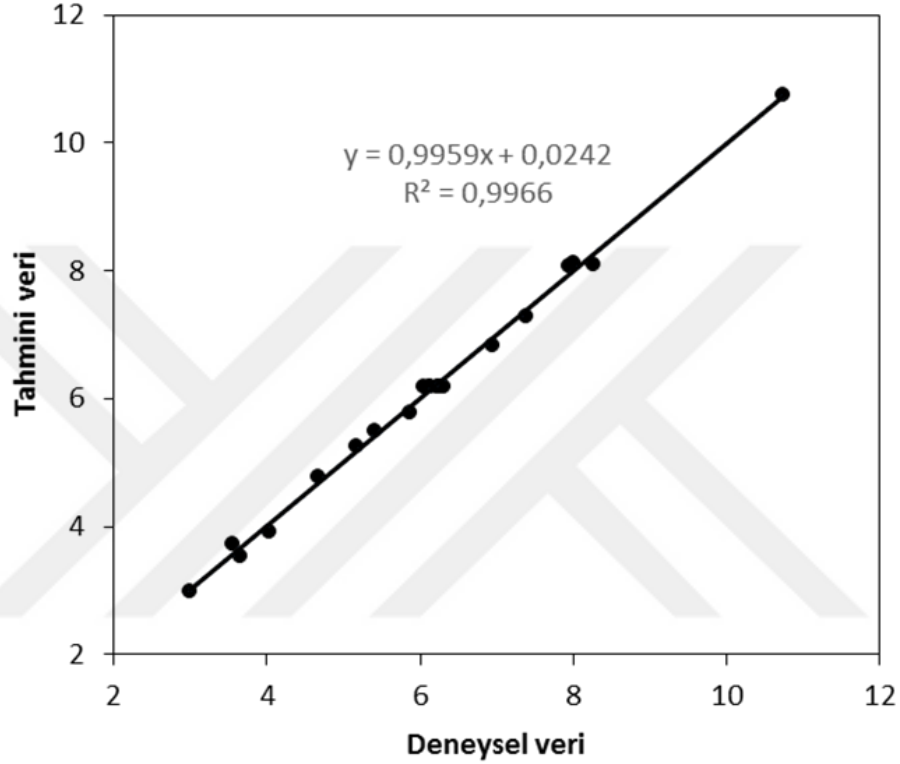
(*Azadirachta indica*) yaprak ekstresi ve 1 mM AgNO_3 çözeltisini içeren 50 ml reaksiyon ortamının optimum olduğunu ortaya koymuşlardır.



Şekil 4.4 Bağımsız Değişkenlerin Gümüş Nanopartikül Üretimi Üzerine Etkilerinin İncelendiği Üç boyulu Yanıt Yüzey Kontür Grafikleri

4.4 Modelin Doğrulanması

Fındık yaprak ekstraktı kullanılarak mikrodalga fırın ile AgNP üretim koşullarının optimizasyonundan elde edilen sonuçlar kullanılarak, sentez sonrası sağlanan verilerin uyumluluğu Şekil 4.5'te yer alan grafikte gösterilmiştir. Deneysel veriler ile tahmini verilere ait modelin R^2 değeri 1'e oldukça yakındır.



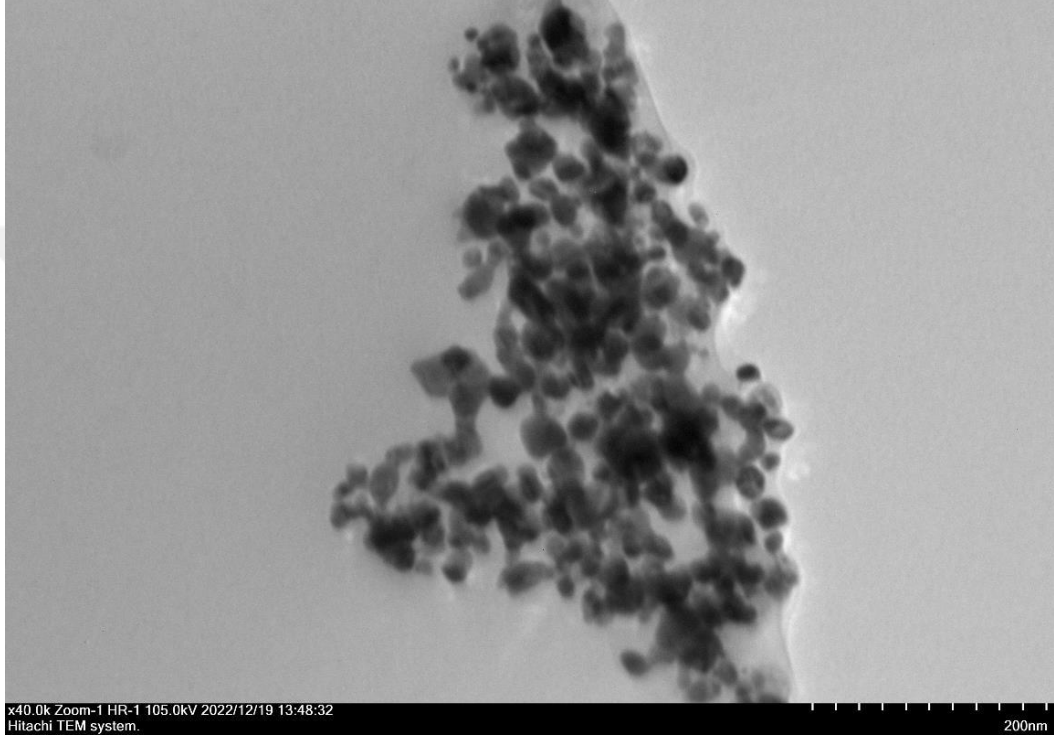
Şekil 4.5 Fındık Yaprak Ekstraktı Kullanılarak Mikrodalga ile Gümüş Nanopartikül Üretiminin Optimizasyon Çalışması ile Elde Edilen Modelin Deneysel Veriler ile Uyumluluğu

4.5 Optimum Noktanın Belirlenmesi ve Geçerliliği

Optimizasyon çalışması sonucunda istenilirlik derecesi 1 olan koşullar belirlenmiştir. Bu koşullar 5 mM AgNO₃ konsantrasyonu, fındık yaprak ekstraktı/AgNO₃ oranı (0.1) ve 90 saniye reaksiyon süresi olarak belirlenmiştir. Optimum koşullarda 5 tekrarlı sentez gerçekleştirilmiş olup, sentezler sonucunda model 115.417 alan değeri tahminlerken ortalama alan 115.899 olarak tespit edilmiştir. Dolayısıyla bu deneysel ve tahmini değerler uyum gösterdiği görülmektedir.

4.6 İletimli Elektron Mikroskop (TEM) Analizi

Optimum koşullarda sentezlenen AgNP'lerin yüzey morfolojisi ve boyutu TEM ile belirlenmiş olup, Şekil 4.6'da verilmiştir. Elde edilen TEM görüntüleri ile nano boyutta sentezin gerçekleştiği, yüzey morfolojisinin küresel olduğu görülmektedir. 60 farklı noktada partiküllerin boyutu ölçülmüş ve ortalama partikül boyutunun 19.63 nm olduğu hesaplanmıştır.



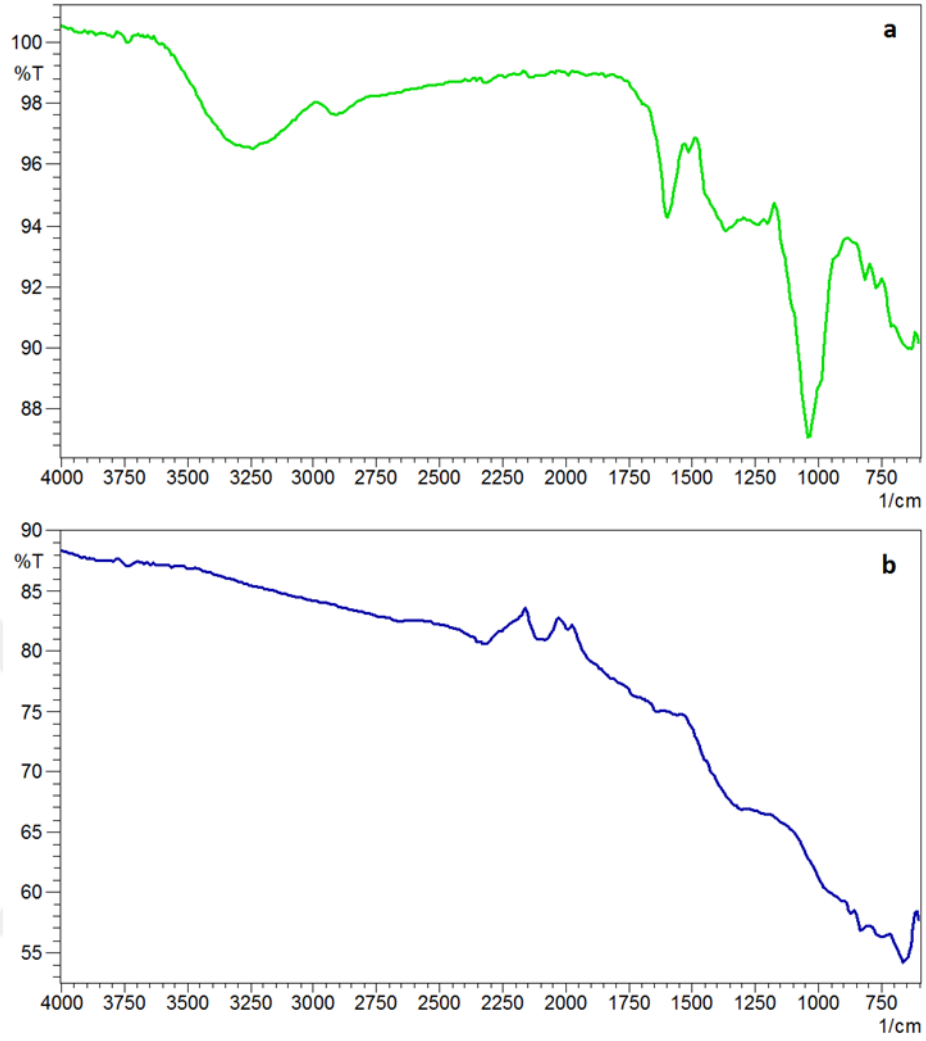
Şekil 4.6 Fındık Yaprak Ekstraktı ile Sentez Edilen Gümüş Nanopartiküllerin TEM Görüntüsü

Önceki çalışmaların sonuçları çalışmamız paralelinde olup, farklı bitkilerin ekstraktları kullanılarak sentez edilen AgNP'lerin boyutlarının küçük ve şekillerinin küresel olduğu rapor edilmiştir. Örneğin yalancı tesbih ağacı (*Azadirachta indica*) bitkisinin indirgeyici ajan olarak kullanıldığı bir çalışmada sentez oda sıcaklığında gerçekleştirilmiş ve TEM sonuçlarına göre elde edilen ürünün şeklinin yuvarlak ve partikül çapının 34 nm olduğu belirlenmiştir (Ahmed ve ark., 2016). Jemilugba ve ark. (2019)'nın çalı söğüdü (*Combretum erythrophyllum*) bitki ekstraktı kullanılarak manyetik karıştırıcı üzerinde ısıtılarak gerçekleştirilen bir sentezde ortalama partikül çapının 13.62 nm olduğunu belirlemişlerdir. Ultrasonik destekli gerçekleştirilen başka bir çalışmada ağaç minesini (*Lantana camara*) bitki ekstraktı kullanılmış ve elde edilen AgNP'lerin şeklinin yuvarlak ve boyutunun ise 33.8 nm olduğu belirtilmiştir

(Manjamadha ve Muthukumar, 2016). Jahan ve ark. (2019)'nın gül (*Rosa santana*) petal ekstraktı ile mikrodalga destekli AgNP sentezi gerçekleştirdikleri bir çalışmada, elde ettikleri AgNP'lerin şeklinin yuvarlak ve ortalama boyutunun 14.48 nm olduğunu belirlemişlerdir. Mikrodalga ile yapılan başka bir çalışmada ıhlamur (*Tilia rubra* subsp. *caucasica*) çiçek ekstraktı kullanarak elde edilen AgNP'lerin şeklinin yuvarlak ve boyutunun 24.77 nm olduğu belirtilmiştir (Yiğit ve Türkkan, 2022).

4.7 Fourier Dönüştümlü Kızılötesi Spektroskopisi (FT-IR)

Fındık yaprak ekstraktı ile optimum koşullarda sentez edilen AgNP'lerin fonksiyonel grupları FT-IR analizleri ile belirlenmiştir. Sentez edilen AgNP'lerin sentez ve stabilizasyonunda rol oynayan bitki ekstraktının sahip olduğu çeşitli fitokimyasalların rolü değerlendirilmiştir. Fındık yaprak ekstraktı ve AgNP'lerin FT-IR spektrumu Şekil 4.7'de verilmiştir. Bitki yaprak ekstraktının FT-IR spektrumunda 10 majör pik belirlenmiş olup, bunlar 3741 ve 3309 cm^{-1} O-H, alkol ve fenol grupları, 2908 cm^{-1} (C-H VE CH_2 ; alifatik hidrokarbonlar), 2360 cm^{-1} ($\text{O}\equiv\text{C}\equiv\text{O}$ gerilimi), 2183 cm^{-1} ($\text{C}\equiv\text{C}$ gerilimi, alkin), 1597 cm^{-1} ($\text{C}\equiv\text{C}$), 1519 cm^{-1} (N-O), 1315 cm^{-1} (C-O ester grup), 1041 cm^{-1} (O-H deformasyonu) ve 648 cm^{-1} (C-C)'dir (Şekil 4.7a). FT-IR spektrokopisinde fındık yaprak ekstraktında yer alan fonksiyonel grupların alkol, fenaol, amin, korkanil ve ester gibi karakteristik özelliklerin absorpsiyon bantlarını göstermektedir (Waclawek ve ark., 2018; Doğanyığıt ve ark., 2019; Yiğit ve Türkkan, 2022). Flavonoid ve fenolik bileşikler muhtemelen π -elektron etkileşimi vasıtasıyla AgNP'lerin yüzeyine absorbe edebilir (Konvickova ve ark., 2018). Fındık yaprak ekstraktındaki karbonil ve hidroksil gruplarının gümüş iyonlarının indirgenerek AgNP sentezinde rol oynayabilirler. Sentez edilen AgNP'lerin FT-IR spektrumunda 3734-671 cm^{-1} aralığında O-H, N-H, C=C, C-N ve C-O gruplarından kaynaklanan farklı pikler gözlenmiştir (Şekil 4.7b).



Şekil 4.7 Fındık Yaprak Ekstraktı (a) ve AgNP (b) FT-IR Spektrumu

4.8 Antifungal Aktivite

Fındık yaprak ekstraktı kullanılarak yeşil sentez yoluyla optimum koşullarda elde edilen AgNP'lerin antimikrobiyal aktiviteleri 6 farklı *Phytophthora* türüne karşı denenmiştir. Çalışmada kullanılan en yüksek konsantrasyonda ($340 \mu\text{g ml}^{-1}$) AgNP'ler *P. cactorum*, *P. capsici*, *P. cinnamomi*, *P. citrophthora*, *P. palmivora* ve *P. nicotianae*'nin misel gelişimini sırasıyla %81.67, %74.80, %73.54, %81.01, %74.50 ve %62.39 oranında engellemiştir. Tüm *Phytophthora* türleri için AgNP'lerin EC_{50} değerleri $118.68\text{--}292.56 \mu\text{g ml}^{-1}$ arasında değişmiştir (Çizelge 4.4). Çalışmada hiçbir *Phytophthora* türü için tam engelleme gerçekleşmediği için MIC değeri $>340 \mu\text{g ml}^{-1}$ olarak tespit edilmiştir.

Çizelge 4.4 Fındık Yaprak Ekstraktı ile Sentezlenen Gümüş Nanopartiküllerin Bazı *Phytophthora* Türlerine Karşı Toksisiteleri

Fungi	EC ₅₀ (µg/ml)	MIC (µg/ml)
<i>Phytophthora cactorum</i>	124.97 (115.77-134.12)	>340
<i>P. capsici</i>	215.01 (194.04-240.78)	>340
<i>P. cinnamomi</i>	118.58 (104.97-131.94)	>340
<i>P. citrophthora</i>	135.77 (123.55-148.21)	>340
<i>P. nicotianae</i>	118.68 (107.58-129.59)	>340
<i>P. palmivora</i>	292.56 (280.36-307.62)	>340

Etkili konsantrasyon (%50)

Minimum engelleyici konsantrasyon

Daha önceki birkaç çalışmada, farklı bitki özleri tarafından sentezlenen AgNP'lerin çeşitli fitopatojenik funguslara karşı güçlü antifungal aktiviteye sahip olduğu gösterilmiştir. Krishnaraj ve ark. (2012), *Botrytis cinerea*, *M. phaseolina*, *R. solani* ve *S. sclerotiorum* dahil olmak üzere bazı sklerotlu fungusların misel büyümesinin, 1500 µg ml⁻¹ konsantrasyonundaki *A. indica*-AgNP'ler tarafından büyük ölçüde engellendiği bildirmiştir. Al-Zahrani ve Al-Garni (2019), pırasa (*Allium ampeloprasum*) kullanılarak sentezlenen AgNP'lerin MIC değerlerinin farklı *Aspergillus* türleri için 652 ile 2500 µg ml⁻¹ arasında değiştiğini belirlemişlerdir. Pelin otu (*Artemisia absinthium*) kullanılarak sentezlenen AgNP'lerin ise *P. capsici*, *P. cinnamomi*, *P. infestans*, *P. katsurae*, *P. palmivora*, *P. parasitica* ve *P. tropicalis* gibi farklı *Phytophthora* türlerine karşı 100 µg ml⁻¹'den çok daha düşük MIC değerine sahip olduğu gözlenmiştir (Ali ve ark., 2015). Ancak bu farklılıklar, AgNP'lerin sentezine aracılık eden bitkilerin biyokimyasal içeriklerinden ve hedef organizmalardaki farklılıktan kaynaklanmış olabilir. AgNP'lerin toksisitesinin çok küçük yapıları, şekilleri ve formları ile ilgili olduğu ve AgNP'lerin mikrobiyal hücreye girdikten sonra hücre organellerinin normal fonksiyonlarını bozarak etki ettiği varsayılmaktadır (Buzea ve ark., 2007).

5. SONUÇ ve ÖNERİLER

Yapmış olduğumuz tez çalışması kapsamında mikrodalga fırın vasıtasıyla fındık yaprak ekstraktı ile Ag^+ iyonlarının Ag^0 iyonlarına indirgenmesi sağlanarak nano boyutta sentezi gerçekleştirilmiştir. AgNP sentezi için belirlenen bağımsız değişkenler (gümüş nitrat konsantrasyonu, fındık yaprak ekstrakt/ AgNO_3 oranı, reaksiyon süresi) optimize edilmiş olup, optimum koşullarda sentez gerçekleştirilerek elde edilen fındık ekstraktı gümüş nanopartiküllerin karakterizasyonu yapılmış ve antifungal aktivitesi incelenmiştir. Araştırma kapsamında aşağıda yer alan sonuçlara ulaşılmıştır.

1. Mikrodalga fırın vasıtasıyla gümüş nanopartikül sentezinin geleneksel ısıtma yöntemlerine göre çok daha hızlı olup, 90 saniye gibi çok kısa bir sürede gerçekleşmesini sağlamıştır.

2. Kullanılan yöntemle sentezlenen fındık yaprak ekstraktı gümüş nanopartiküllerin UV-Vis spektral zirveleri literatürde belirtilen aralıkta olup, AgNP 396-411 nm arasındadır.

3. Sentez için seçilen bağımsız değişkenler; gümüş nitrat konsantrasyonu (mM) fındık yaprak ekstrakt/ AgNO_3 oranı, reaksiyon süresi (sn) olup, optimizasyon için yanıt yüzey yöntemi kullanılmıştır. Yanıt olarak UV-Vis spektroskopisinde 350-420 nm aralığındaki spektral alan trapezoidal yöntem kullanılarak excel ile hesaplanmış ve bu alanın maksimize edilmesi amaçlanmıştır. Çalışma sonunda optimum koşullar; reaksiyon süresi için 90 saniye, gümüş nitrat konsantrasyonu için 5 mM ve fındık yaprak ekstrakt/ AgNO_3 oranı için ise 0.1 olarak belirlenmiştir.

4. Fındık yaprak ekstraktı ve elde edilen gümüş nanopartiküllerin FT-IR spektrumları incelendiğinde parmak izi bölgesi olarak adlandırılan 1627 ile 1041 cm^{-1} dalga boyu arasındaki bağların benzerliği; Ag^+ iyonlarının indirgenmesinde fındık yaprak ekstraktındaki fonksiyonel grupların rol aldığını göstermiştir.

5. Optimum koşullarda sentezlenen AgNP'lerin yüzey morfolojisi ve boyutu TEM ile belirlenmiş olup, optimum koşullarda sentez edilen AgNP'lerin boyutlarının ortalama değerlerinin 19.67 nm olduğu belirlenmiştir.

6. Antifungal aktivite çalışmalarında sentez edilen AgNP'lerin *P. cactorum*, *P.*

capsici, *P. cinnamomi*, *P. citrophthora*, *P. palmivora* ve *P. nicotianae* türlerine karşı toksik aktivite sergilediği belirlenmiştir. Tüm *Phytophthora* türleri için AgNP'lerin EC₅₀ değerleri 118.68-292.56 µg ml⁻¹ arasında değişmektedir. Ayrıca MIC değerinin ise >340 µg ml⁻¹'in üzerinde olduğu bulunmuştur.

Çalışma sonucunda Türk fındık yaprak ekstraktında bulunan fonksiyonel gruplar aracılığıyla Ag⁺ iyonlarının indirgenerek nano boyutta sentezin gerçekleştirilebileceği görülmüş; sentez koşulları yanıt yüzey yöntemi ile optimize edilerek yüksek verimde üretim gerçekleştirilmiştir. Türk fındığı yaprak ekstraktı ile sentezlenen AgNP'lerin antifungal aktivite sergilemesi bitki fungal hastalıkları ile alternatif bir mücadele yöntemi olarak kullanılmasının önünü açmıştır.

6. KAYNAKLAR

- Agrios, GN. (2005). Plant pathology 5th edition: Elsevier academic press. Burlington, Ma. USA, 79- 103.
- Ahmad, A., Mukherjee, P., Senapati, S., Mandal, D., Khan, MI., Kumar, R. & Sastry, M. (2003). Extracellular biosynthesis of silver nanoparticles using the fungus *Fusarium oxysporum*. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 28(4), 313-318.
- Ahmed, S., Ahmad, M., Swami, BL. & Ikram, S. (2016). Green synthesis of silver nanoparticles using *Azadirachta indica* aqueous leaf extract. *Journal of Radiation Research and Applied Sciences*, 9(1), 1-7.
- Aktepe, N. (2021). Synthesis, characterization and antimicrobial activities of silver nanomaterials. *Dicle University Journal of Engineering*, 12(2), 347-354.
- Alamri, SA. & Moustafa, MF. (2012). Antimicrobial properties of 3 medicinal plants from Saudi Arabia against some clinical isolates of bacteria. *Saudi Medical Journal*, 33(3), 272-277.
- Ali, K., Ahmed, B., Dwivedi, S., Saquib, Q., Al-Khedhairi, AA. & Musarrat, J. (2015). Microwave accelerated green synthesis of stable silver nanoparticles with *Eucalyptus globulus* leaf extract and their antibacterial and antibiofilm activity on clinical isolates. *PloS one*, 10(7), 1-20.
- Ali, M., Kim, B., Belfield, KD., Norman, D., Brennan, M. & Ali, GS. (2015). Inhibition of *Phytophthora parasitica* and *P. capsici* by silver nanoparticles synthesized using aqueous extract of *Artemisia absinthium*. *Phytopathology*, 105(9), 1183-1190.
- Al-Otibi, F., Perveen, K., Al-Saif, NA., Alharbi, RI., Bokhari, N.A., Albasher, G., Al-Otibi, RM. & Al-Mosa, MA. (2021). Biosynthesis of silver nanoparticles using *Malva parviflora* and their antifungal activity. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 28(4), 2229-2235.
- Alsammarraie, FK., Wang, W., Zhou, P., Mustapha, A. & Lin, M. (2018). Green synthesis of silver nanoparticles using turmeric extracts and investigation of their antibacterial activities. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 171, 398-405.
- Al-Zahrani, SS. & Al-Garni, SM. (2019). Biosynthesis of silver nanoparticles from *Allium ampeloprasum* leaves extract and its antifungal activity. *Journal of Biomaterials and Nanobiotechnology*, 10(01), 11.
- Arslan, M. (2005). Batı Karadeniz Bölgesindeki Türk fıındığı (*Corylus colurna* L.) populasyonlarının ekolojik ve silvikültürel yönden incelenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Abant İzzet Baysal Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Orman Mühendisliği Anabilimdalı, Bolu.
- Arya, G., Kumari, RM., Gupta, N., Kumar, A., Chandra, R. & Nimesh, S. (2018). Green synthesis of silver nanoparticles using *Prosopis juliflora* bark extract: reaction optimization, antimicrobial and catalytic activities. *Artificial Cells, Nanomedicine, and Biotechnology*, 46(5), 985-993.

- Assunção, DPDSFD., Justus, B., Toledo, ACO. & Paula, JDFPD. (2021). Development, Characterization and Microbiological Evaluation of Silver Nanoparticles, Obtained by Green Synthesis, from the Extract of *Annona muricata* L. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 64.
- Ateş H. & Bahçeci, E. (2015). Nano malzemeler için üretim yöntemleri. *Gazi University Journal of Science Part C: Design and Technology*, 3(2), 483-499.
- Ayfer, M., Uzun, A. & Baş, F. (1986). Türk Fındık Çeşitleri. Ankara, Türkiye, 95s.
- Aziz, WJ. & Jassim, HA. (2018). Green chemistry for the preparation of silver nanoparticles using mint leaf leaves extracts and evaluation of their antimicrobial potential. *World News of Natural Sciences*, 18(2), 163-170.
- Bankar, A., Joshi, B., Kumar, AR. & Zinjarde, S. (2010). Banana peel extract mediated novel route for the synthesis of silver nanoparticles. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 368(1-3), 58-63.
- Bar, H., Bhui, DK., Sahoo, GP., Sarkar, P., De, SP. & Misra, A. (2009). Green synthesis of silver nanoparticles using latex of *Jatropha curcas*. *Colloids and surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 339(1-3), 134-139.
- Baran, MF. (2019). *Prunus avium* kiraz yaprağı özütü ile gümüş nanopartikül (AgNP) sentezi ve antimikrobiyal etkisinin incelenmesi. *Dicle Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Mühendislik Dergisi*, 10(1), 221-227.
- Baran, MF., Keskin, C., Baran, A., Hatipoğlu, A., Yildiztekin, M., Küçükaydin, S., Kurt, K., Hoşgören, H., Sarker, MMD., Sufianov, A., Beylerli, O., Khalilov, R. & Eftekhari, A. (2023). Green Synthesis of Silver Nanoparticles from *Allium cepa* L. Peel Extract, Their Antioxidant, Antipathogenic, and Anticholinesterase Activity. *Molecules*, 28(5), 2310.
- Behravan, M., Panahi, AH., Naghizadeh, A., Ziaee, M., Mahdavi, R. & Mirzapour, A. (2019). Facile green synthesis of silver nanoparticles using *Berberis vulgaris* leaf and root aqueous extract and its antibacterial activity. *International journal of biological macromolecules*, 124, 148-154.
- Benov, L. & Georgiev, N. (1994). The antioxidant activity of flavonoids isolated from *Corylus colurna*. *Phytotherapy Research*, 8(2), 92-94.
- Bharadwaj, KK., Rabha, B., Pati, S., Choudhury, BK., Sarkar, T., Gogoi, SK., Kakati, N., Baishya, D., Kari, ZA. & Edinur, HA. (2021). Green synthesis of silver nanoparticles using *Diospyros malabarica* fruit extract and assessments of their antimicrobial, anticancer and catalytic reduction of 4-nitrophenol (4-NP). *Nanomaterials*, 11(8), 1999.
- Bhushan, B. (2017). Introduction to nanotechnology. In *Springer handbook of nanotechnology*. Springer, Berlin, Heidelberg 1- 19 pp.
- Botta, R., Molnar, TJ., Erdogan, V., Valentini, N., Torello Marinoni, D. & Mehlenbacher, SA. (2019). Hazelnut (*Corylus* spp.) breeding. *Advances in Plant Breeding Strategies: Nut and Beverage Crops*: 4, 157-219.
- Buzea, C., Pacheco, II. & Robbie, K. (2007). Nanomaterials and nanoparticles: sources and toxicity. *Biointerphases*, 2(4). 17-71.

- Cai, Y., Piao, X., Gao, W., Zhang, Z., Nie, E. & Sun, Z. (2017). Large-scale and facile synthesis of silver nanoparticles via a microwave method for a conductive pen. *The Royal Society of Chemistry advances*, 7(54), 34041-34048.
- Ceylan, O., Sahin, MD. & Avaz, S. (2013): Antibacterial Activity of *Corylus colurna* L. (Betulacea) and *Prunus divaricata* Ledep. subsp. *divaricata* (Rosaceae) from Usak, Turkey. *Bulgarian Journal of Agricultural Science* 19, 1204-1207.
- Chahardoli, A., Karimi, N., Ma, X. & Qalekhani, F. (2020). Effects of engineered aluminum and nickel oxide nanoparticles on the growth and antioxidant defense systems of *Nigella arvensis* L. *Scientific Reports*, 10(1), 1-11.
- Chandran, SP., Chaudhary, M., Pasricha, R., Ahmad, A. & Sastry, M. (2006). Synthesis of gold nanotriangles and silver nanoparticles using *Aloe vera* plant extract. *Biotechnology progress*, 22(2), 577-583.
- Chowdhury, S., Yusof, F., Faruck, MO. & Sulaiman, N. (2016). Process optimization of silver nanoparticle synthesis using response surface methodology. *Procedia engineering*, 148, 992- 999.
- Dobrowolski, MP., Shearer, BL., Colquhoun, IJ., O'brien, PA. & Hardy, GS. (2008). Selection for decreased sensitivity to phosphite in *Phytophthora cinnamomi* with prolonged use of fungicide. *Plant pathology*, 57(5), 928-936.
- Duncan, TV. (2011). Applications of nanotechnology in food packaging and food safety: barrier materials, antimicrobials and sensors. *Journal of colloid and interface science*, 363(1), 1-24.
- Ebin, B. (2008). Demir Nano-partiküllerinin Ultrasonik Sprey Piroliz ve Hidrojen Redüksiyonu (usp-hr) Yöntemi İle Üretimi. Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Ebin, B., Gençer, Ö. & Gürmen, S. (2013). Simple preparation of CuO nanoparticles and submicron spheres via ultrasonic spray pyrolysis (USP). *International journal of materials research*, 104(2), 199-206.
- Ege, E., Kurtay, G., Karaca, B., Büyük, İ., Gökdemir, FŞ. & Aras, S. (2020). Green Synthesis of Silver Nanoparticles from *Phaseolus vulgaris* L. Extracts and Investigation of their Antifungal Activities. *Hacettepe Journal of Biology and Chemistry*, 49(1), 11-23.
- Elmer, WH., de la Torre-Roche, R., Zuverza-Mena, N., Adisa, IH., Dimkpa, C., Gardea-Torresdey, J. & White, JC. (2021). Influence of single and combined mixtures of metal oxide nanoparticles on eggplant growth, yield, and *Verticillium* wilt severity. *Plant Disease*, 105(4), 1153-1161.
- Erci, F., Cakir-Koc, R. & Isildak, I. (2018). Green synthesis of silver nanoparticles using *Thymbra spicata* L. var. *spicata* (zahter) aqueous leaf extract and evaluation of their morphology-dependent antibacterial and cytotoxic activity. *Artificial cells, nanomedicine, and biotechnology*, 46(1), 150-158.
- Eren, A. & Baran, MF. (2019). Fıstık (*Pistacia vera* L.) yaprağından gümüş nanopartikül (AgNP)'lerin sentezi, karakterizasyonu ve antimikrobiyal aktivitesinin incelenmesi. *Türkiye Tarımsal Araştırmalar Dergisi*, 6(2), 165-173.

- Eshghi, M., Kamali-Shojaei, A., Vaghari, H., Najian, Y., Mohebian, Z., Ahmadi, O. & Jafarizadeh-Malmiri, H. (2021). *Corylus avellana* leaf extract-mediated green synthesis of antifungal silver nanoparticles using microwave irradiation and assessment of their properties. *Green Processing and Synthesis*, 10(1), 606-613.
- Esumi, K., Tano, T., Torigoe, K. & Meguro, K. (1990). Preparation and characterization of bimetallic palladium-copper colloids by thermal decomposition of their acetate compounds in organic solvents. *Chemistry of Materials*, 2(5), 564-567.
- Fatimah, I., Hidayat, H., Nugroho, BH. & Husein, S. (2020). Ultrasound-assisted biosynthesis of silver and gold nanoparticles using *Clitoria ternatea* flower. *South African Journal of Chemical Engineering*, 34, 97-106.
- Ghojavand, S., Madani, M. & Karimi, J. (2020). Green synthesis, characterization and antifungal activity of silver nanoparticles using stems and flowers of felty germander. *Journal of Inorganic and Organometallic Polymers and Materials*, 30(8), 2987-2997.
- Goia, DV. & Matijević, E. (1998). Preparation of monodispersed metal particles. *New Journal of Chemistry*, 22(11), 1203-1215.
- Guan, Z., Ying, S., Ofoegbu, PC., Clubb, P., Rico, C., He, F. & Hong, J. (2022). Green synthesis of nanoparticles: Current developments and limitations. *Environmental Technology & Innovation*, 26, 102336.
- Guilger-Casagrande, M. & Lima, RD. (2019). Synthesis of silver nanoparticles mediated by fungi: a review. *Frontiers in bioengineering and biotechnology*, 7, 287.
- Gurunathan, S., Kalishwaralal, K., Vaidyanathan, R., Venkataraman, D., Pandian, SRK., Muniyandi, J., Hariharan, N. & Eom, SH. (2009). Biosynthesis, purification and characterization of silver nanoparticles using *Escherichia coli*. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 74(1), 328-335.
- Hasan, S. (2015). A review on nanoparticles: their synthesis and types. *Research Journal of Recent Sciences*, 2277, 2502.
- Henglein, A. (1989). Small-particle research: physicochemical properties of extremely small colloidal metal and semiconductor particles. *Chemical reviews*, 89(8), 1861-1873.
- Jahan, I., Erci, F. & Isildak, I. (2019). Microwave-assisted green synthesis of non-cytotoxic silver nanoparticles using the aqueous extract of *Rosa santana* (rose) petals and their antimicrobial activity. *Analytical Letters*, 52(12), 1860-1873.
- Jahan, I., Erci, F., Cakir-Koc, R. & Isildak, I. (2020). Microwave-irradiated green synthesis of metallic silver and copper nanoparticles using fresh ginger (*Zingiber officinale*) rhizome extract and evaluation of their antibacterial potentials and cytotoxicity. *Inorganic and Nano-Metal Chemistry*, 51(5), 722-732.
- Jebril, S., Jenana, RKB. & Dridi, C. (2020). Green synthesis of silver nanoparticles using *Melia azedarach* leaf extract and their antifungal activities: *In vitro* and

in vivo. Materials Chemistry and Physics, 248, 122898.

- Jemilugba, OT., Parani, S., Mavumengwana, V. & Oluwafemi, OS. (2019). Green synthesis of silver nanoparticles using *Combretum erythrophyllum* leaves and its antibacterial activities. *Colloid and Interface Science Communications*, 31, 100191.
- Jia, B., Mei, Y., Cheng, L., Zhou, J. & Zhang, L. (2012). Preparation of copper nanoparticles coated cellulose films with antibacterial properties through one-step reduction. *American Chemical Society applied materials & interfaces*, 4(6), 2897-2902.
- Joseph, S. & Mathew, B. (2015). Microwave-assisted green synthesis of silver nanoparticles and the study on catalytic activity in the degradation of dyes. *Journal of Molecular Liquids*, 204, 184-191.
- Kahrilas, GA., Wally, LM., Fredrick, SJ., Hiskey, M., Prieto, AL. & Owens, JE. (2014). Microwave-assisted green synthesis of silver nanoparticles using orange peel extract. *ACS Sustainable Chemistry & Engineering*, 2(3), 367-376.
- Karthik, R., Govindasamy, M., Chen, SM., Cheng, YH., Muthukrishnan, P., Padmavathy, S. & Elangovan, A. (2017). Biosynthesis of silver nanoparticles by using *Camellia japonica* leaf extract for the electrocatalytic reduction of nitrobenzene and photocatalytic degradation of Eosin-Y. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 170, 164-172.
- Khane, Y., Benouis, K., Albukhaty, S., Sulaiman, GM., Abomughaid, MM., Ali, A. & Dizge, N. (2022). Green synthesis of silver nanoparticles using aqueous *Citrus limon* zest extract: Characterization and evaluation of their antioxidant and antimicrobial properties. *Nanomaterials*, 12(12), 2013.
- Korkut, DS., Korkut, S., Bekar, I., Budakçı, M., Dilik, T. & Çakıcıer, N. (2008). The effects of heat treatment on the physical properties and surface roughness of Turkish hazel (*Corylus colurna* L.) wood. *International Journal of Molecular Sciences*, 9(9), 1772-1783.
- Krishnaraj, C., Jagan, EG., Rajasekar, S., Selvakumar, P., Kalaichelvan, PT. & Mohan, NJCSBB. (2010). Synthesis of silver nanoparticles using *Acalypha indica* leaf extracts and its antibacterial activity against water borne pathogens. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 76(1), 50-56.
- Kroon, LPNM., Brouwer, H., De Cock, A. WAM. & Govers, F. (2012). The *Phytophthora* genus anno 2012. *Phytopathology*, 102(4), 348-364.
- Kumar, B., Smita, K., Cumbal, L. & Debut, A. (2017). Green synthesis of silver nanoparticles using Andean blackberry fruit extract. *Saudi journal of biological sciences*, 24(1), 45-50.
- Kumar, KM., Mandal, BK., Sinha, M. & Krishnakumar, V. (2012). *Terminalia chebula* mediated green and rapid synthesis of gold nanoparticles. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 86, 490-494.
- Kumavat, SR. & Mishra, S. (2021). Green synthesis of silver nanoparticles using *Borago officinalis* leaves extract and screening its antimicrobial and antifungal

- activity. *International Nano Letters*, 11(4), 355-370.
- Le, NTT., Trinh, BT., Nguyen, DH., Tran, LD., Luu, CH. & Hoang Thi, TT. (2021). The physicochemical and antifungal properties of eco-friendly silver nanoparticles synthesized by *Psidium guajava* leaf extract in the comparison with *Tamarindus indica*. *Journal of Cluster Science*, 32(3), 601-611.
- Lin, YL., Wang, WY., Kuo, YH. & Chen, CF. (2000). Nonsteroidal constituents from *Solanum incanum* L. *Journal of the Chinese Chemical Society*, 47(1), 247-251.
- Lodriche, SS., Soltani, S. & Mirzazadeh, R. (2013). *United States Patent Application* No. 13/406,538.
- Loo, YY., Chieng, BW., Nishibuchi, M. & Radu, S. (2012). Synthesis of silver nanoparticles by using tea leaf extract from *Camellia sinensis*. *International journal of nanomedicine*, 4263-4267.
- Luther, W. (2006). International strategy and foresight report on nanoscience and nanotechnology.
- Maghsoudy, N., Azar, PA., Tehrani, MS., Husain, SW. & Larijani, K. (2019). Biosynthesis of Ag and Fe nanoparticles using *Erodium cicutarium*; study, optimization, and modeling of the antibacterial properties using response surface methodology. *Journal of Nanostructure in Chemistry*, 9(3), 203-216.
- Manjamadha, VP. & Muthukumar, K. (2016). Ultrasound assisted green synthesis of silver nanoparticles using weed plant. *Bioprocess and biosystems engineering*, 39, 401-411.
- Mishra, S. & Singh, HB. (2015). Biosynthesized silver nanoparticles as a nanoweapon against phytopathogens: exploring their scope and potential in agriculture. *Applied microbiology and biotechnology*, 99, 1097-1107.
- Mohamed, YMA. & Elshahawy, IE. (2022). Antifungal activity of photo-biosynthesized silver nanoparticles (AgNPs) from organic constituents in orange peel extract against phytopathogenic *Macrophomina phaseolina*. *European Journal of Plant Pathology*, 162(3), 725-738.
- Molnar, TJ. (2011). *Corylus*. Wild crop relatives: genomic and breeding resources: forest trees, Editör: Chittaranjan Kole, 15-48.
- Moustafa, M., Sayed, M., Alamri, S., Alghamdii, H., Shati, A., Alrumman, S. & Negm, S. (2021). Green synthesis of Ag nanoparticles using leaf aqueous extracts of *Aizoon canariense* L. growing in Asir, Saudi Arabia against plant pathogenic fungi. *Pakistan Journal of Agricultural Sciences*, 58(1).
- Nath, D. & Banerjee, P. (2013). Green nanotechnology—a new hope for medical biology. *Environmental toxicology and pharmacology*, 36(3), 997-1014.
- Noroozi, M., Zakaria, A., Moksini, MM., Wahab, ZA. & Abedini, A. (2012). Green formation of spherical and dendritic silver nanostructures under microwave irradiation without reducing agent. *International journal of molecular sciences*, 13(7), 8086-8096.
- Omidi, S., Sedaghat, S., Tahvildari, K., Derakhshi, P. & Motiee, F. (2018). Biosynthesis of silver nanocomposite with Tarragon leaf extract and

- assessment of antibacterial activity. *Journal of Nanostructure in Chemistry*, 8, 171-178.
- Ovais, M., Khalil, AT., Ayaz, M., Ahmad, I., Nethi, SK. & Mukherjee, S. (2018). Biosynthesis of metal nanoparticles via microbial enzymes: a mechanistic approach. *International journal of molecular sciences*, 19(12), 4100.
- Öztürk, BY. & Öztürk, D. (2020). *Tilia rubra* DC. ekstraktı kullanılarak gümüş nanopartikülün hücre dışı biyosentezi ve antifungal aktivitesi. *Biyolojik Çeşitlilik ve Koruma*, 13(3), 244-251.
- Panpatte, DG. & Jhala, YK. (2019). Nanotechnology for Agriculture: Crop Production & Protection. Springer Nature, Indian, 39 pp.
- Pastoriza-Santos, I. & Liz-Marzán, LM. (2002). Synthesis of silver nanoprisms in DMF. *Nanoletters*, 2(8), 903-905.
- Patel, SR. & Patel, RM. (2022). Growth inhibition activity of biogenic synthesized silver nanoparticles (AgNPs) against mango anthracnose (*Colletotrichum gloeosporioides*) disease. *The Pharma Innovation Journal*, 11(10), 1701-1708.
- Polat, S. & Güney, Y. (2015) Türk fındığı'nın (*Corylus colurna*) Türkiye'deki yeni biryayılış alanı. *Akademik Sosyal Araştırmalar Dergisi*, 3(18), 449-460.
- Pourmortazavi, S. M., Taghdiri, M., Makari, V. & Rahimi-Nasrabadi, M. (2015). Procedure optimization for green synthesis of silver nanoparticles by aqueous extract of *Eucalyptus oleosa*. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 136, 1249-1254.
- Pungle, R., Nile, SH. & Kharat, AS. (2023). Green synthesis and characterization of *Solanum xanthocarpum* capped silver nanoparticles and its antimicrobial effect on multidrug-resistant bacterial (MDR) isolates. *Chemical Biology & Drug Design*, 101(3), 469-478.
- Raja, K., Saravanakumar, A. & Vijayakumar, R. (2012). Efficient synthesis of silver nanoparticles from *Prosopis juliflora* leaf extract and its antimicrobial activity using sewage. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 97, 490-494.
- Rajesh, KM., Ajitha, B., Reddy, YAK., Suneetha, Y. & Reddy, PS. (2018). Assisted green synthesis of copper nanoparticles using *Syzygium aromaticum* bud extract: Physical, optical and antimicrobial properties. *Optik*, 154, 593-600
- Ravichandran, V., Vasanthi, S., Shalini, S., Shah, SAA. & Harish, R. (2016). Green synthesis of silver nanoparticles using *Atrocarpus altilis* leaf extract and the study of their antimicrobial and antioxidant activity. *Materials Letters*, 180, 264-267
- Riethmueller, E., Toth, G., Alberti, A., Sonati, M. & Kery, A. (2014). Antioxidant activity and phenolic composition of *Corylus colurna*. *Natural product communications*, 9(5), 679-682.
- Riethmüller, E., Könczöl, Á., Szakál, D., Végh, K., Balogh, GT. & Kéry, Á. (2016). HPLC-DPPH screening method for evaluation of antioxidant compounds in *Corylus* species. *Natural Product Communications*, 11(5), 4-641.

- Rodriguez-Sanchez, L., Blanco, MC. & López-Quintela, MA. (2000). Electrochemical synthesis of silver nanoparticles. *The Journal of Physical Chemistry B*, 104(41), 9683-9688.
- Saleeb, N., Robinson, B., Cavanagh, J., Ross, J., Munir, K. & Gooneratne, R. (2020). Antioxidant enzyme activity and lipid peroxidation in *Aporrectodea caliginosa* earthworms exposed to silver nanoparticles and silver nitrate in spiked soil. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 39(6), 1257-1266.
- Sathishkumar, M., Sneha, K., Won, SW., Cho, CW., Kim, S. & Yun, YS. (2009). Cinnamon zeylanicum bark extract and powder mediated green synthesis of nano-crystalline silver particles and its bactericidal activity. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 73(2), 332-338.
- Sebastian, D. (2022). Characterization of Green Synthesized Antibacterial Silver Nanoparticles from *Amaranthus spinosus* L. Extract. *BioNanoScience*, 12(2), 502-511.
- Shahverdi, AR., Minaeian, S., Shahverdi, HR., Jamalifar, H. & Nohi, AA. (2007). Rapid synthesis of silver nanoparticles using culture supernatants of Enterobacteria: a novel biological approach. *Process Biochemistry*, 42(5), 919-923.
- Shankar, SS., Rai, A., Ahmad, A. & Sastry, M. (2004). Rapid synthesis of Au, Ag, and bimetallic Au core–Ag shell nanoparticles using Neem (*Azadirachta indica*) leaf broth. *Journal of colloid and interface science*, 275(2), 496-502.
- Shetty, P., Supraja, N., Garud, M. & Prasad, TNVKV. (2014). Synthesis, characterization and antimicrobial activity of *Alstonia scholaris* bark-extract-mediated silver nanoparticles. *Journal of Nanostructure in Chemistry*, 4(4), 161-170.
- Siddiqi, KS., Rashid, M., Rahman, A., Husen, A. & Rehman, S. (2018). Biogenic fabrication and characterization of silver nanoparticles using aqueous-ethanolic extract of lichen (*Usnea longissima*) and their antimicrobial activity. *Biomaterials research*, 22(1), 1-9.
- Taleb, A., Petit, C. & Pileni, MP. (1997). Synthesis of highly monodisperse silver nanoparticles from AOT reverse micelles: a way to 2D and 3D self-organization. *Chemistry of Materials*, 9(4), 950-959.
- Tosun, S., (2012). Cadde (Yol) Ağacı Olarak Amerika’da ve Avrupa’da Popülerleşen Türk Fındığı(*Corylus colurna* L.), *Orman ve Av Dergisi*, 3, 22-25.
- Türkkan, M. (2013). Antifungal effect of various salts against *Fusarium oxysporum* f. sp. *cepae*, the causal agent of *Fusarium* basal rot of onion. *Journal of Agricultural Sciences*, 19(3), 178-187.
- Tüylek, Z. (2016). Küçük şeylerin hikâyesi: Nanomalzeme. *Nevşehir Bilim ve Teknoloji Dergisi*, 5(2), 130-141.
- Valli, JS. & Vaseeharan, B. (2012). Biosynthesis of silver nanoparticles by *Cissus quadrangularis* extracts. *Materials Letters*, 82, 171-173.
- Venkatadri, B., Shanparvish, E., Rameshkumar, MR., Arasu, MV., Al-Dhabi, NA., Ponnusamy, VK. & Agastian, P. (2020). Green synthesis of silver nanoparticles

- using aqueous rhizome extract of *Zingiber officinale* and *Curcuma longa*: In-vitro anti-cancer potential on human colon carcinoma HT-29 cells. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 27(11), 2980-2986.
- Vidhu, VK., Aromal, SA. & Philip, D. (2011). Green synthesis of silver nanoparticles using *Macrotyloma uniflorum*. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 83(1), 392-397.
- Vilchis-Nestor, AR., Sánchez-Mendieta, V., Camacho-López, MA., Gómez-Espinosa, RM., Camacho-López, MA. & Arenas-Alatorre, JA. (2008). Solventless synthesis and optical properties of Au and Ag nanoparticles using *Camellia sinensis* extract. *Materials letters*, 62(17-18), 3103-3105.
- Villanueva-Ibáñez, M., Yañez-Cruz, MG., Álvarez-García, R., Hernández-Pérez, M. A. & Flores-González, MA. (2015). Aqueous corn husk extract-mediated green synthesis of AgCl and Ag nanoparticles. *Materials Letters*, 152, 166-169.
- Vinodhini, S., Vithiya, BSM. & Prasad, TAA. (2022). Green synthesis of silver nanoparticles by employing the *Allium fistulosum*, *Tabernaemontana divaricate* and *Basella alba* leaf extracts for antimicrobial applications. *Journal of King Saud University-Science*, 34(4), 101939.
- Wacławek, S., Gončuková, Z., Adach, K., Fijałkowski, M. & Černík, M. (2018). Green synthesis of gold nanoparticles using *Artemisia dracunculus* extract: control of the shape and size by varying synthesis conditions. *Environmental Science and Pollution Research*, 25(24), 24210- 24219.
- Webster, J. & Weber, RWS. (2007). Introduction to Fungi. Third Edition, Cambridge University Press, Cambridge, USA, 875pp.
- Yiğit, U. & Türkkkan, M. (2022). Antifungal activity and optimization procedure of microwave-synthesized silver nanoparticles using linden (*Tilia rubra* subsp. *caucasica*) flower extract. *International Journal of Chemistry and Technology*, doi: 10.32571/ijct.1194356.
- Zhu, J., Liu, S., Palchik, O., Koltypin, Y. & Gedanken, A. (2000). Shape-controlled synthesis of silver nanoparticles by pulse sonoelectrochemical methods. *Langmuir*, 16(16), 6396-6399.

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler	
Adı Soyadı	Ceylan GEVREK
Doğum Yeri	
Doğum Tarihi	
Uyruğu	☒ T.C. ☐ Diğer:
Telefon	
E-Posta Adresi	

Eğitim Bilgileri	
Lisans	
Üniversite	Ordu Üniversitesi
Fakülte	Ziraat Fakültesi
Bölümü	Bitki Koruma
Mezuniyet Yılı	28.06.2018
Yüksek Lisans	
Üniversite	Ordu Üniversitesi
Enstitü Adı	Fen Bilimleri Enstitüsü
Anabilim Dalı	Bitki Koruma Anabilim Dalı
Mezuniyet Tarihi	12.05.2023